

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004年3月18日 (18.03.2004)

PCT

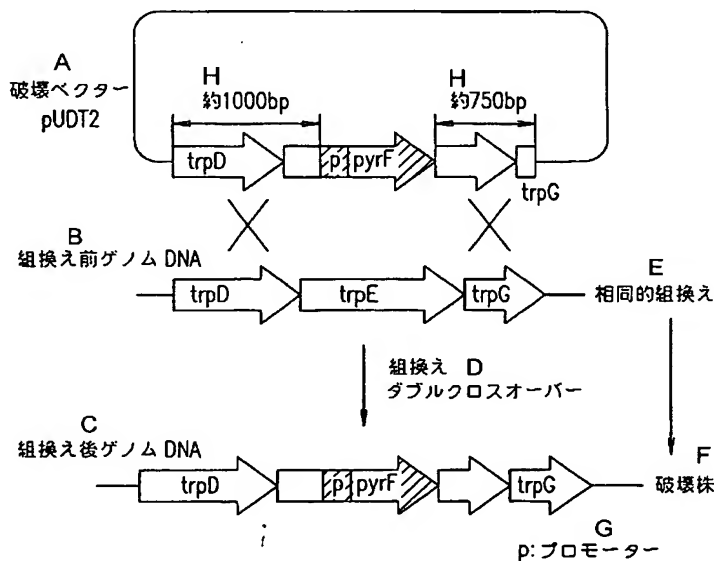
(10) 国際公開番号
WO 2004/022736 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 15/00, CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本町4丁目1番8号 Saitama (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/IB2003/003597 (72) 発明者; および
- (22) 国際出願日: 2003年8月29日 (29.08.2003) (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 今中忠行 (IMANAKA, Tadayuki) [JP/JP]; 〒565-0873 大阪府吹田市藤白台2-28-11 Osaka (JP). 跡見晴幸 (ATOMI, Haruyuki) [JP/JP]; 〒606-8102 京都府京都市左京区高野清水町47-3-422 Kyoto (JP).
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2002-319011 2002年8月30日 (30.08.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY
- (74) 代理人: 山本秀策 (YAMAMOTO, Shusaku et al.); 〒540-6015 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号 クリスタルタワー15階 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF TARGETED GENE DISRUPTION, GENOME OF HYPERTHERMOSTABLE BACTERIUM AND GENOME CHIP USING THE SAME

(54) 発明の名称: 遺伝子のターゲティング破壊法および超耐熱菌ゲノム、ならびにこれらを利用したゲノムチップ



A...DISRUPTING VECTOR
B...UNRECOMBINED GENOME
C...RECOMBINED GENOME
D...RECOMBINATION CROSSOVER
E...HOMOLOGOUS RECOMBINATION
F...DISRUPTED STRAIN
G...PROMOTER
H...ABOUT

(57) Abstract: It is intended to provide an efficient and sure gene targeting method embodied at an arbitrary position in the genome of an organism and a kit therefor. It is also intended to provide a method for targetedly disrupting an arbitrary gene in the genome of an organism which comprises: 1) the step of providing the whole sequential data of the genome of the organism; 2) the step of selecting at least one arbitrary region in the sequence; 3) the step of providing a vector containing a sequence homologous with the region selected above and a marker gene; 4) the step of transforming the organism by the vector; and 5) the step of providing the organism under such conditions as allowing homologous recombination. Moreover, the genome of a hyperthermostable bacterium and its array are provided.

[続葉有]

WO 2004/022736 A1



ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

本発明は、生物のゲノムの任意の場所で効率よく確実な遺伝子ターゲティングの方法およびそのためのキットを提供する。本発明はまた、生物のゲノムにおける任意の遺伝子をターゲティング破壊するための方法であって、1) 該生物のゲノムの全配列の情報を提供する工程；2) 該配列の任意の少なくとも1つの領域を選択する工程；3) 該選択された領域と相同な配列、およびマーカ-遺伝子を含むベクターを提供する工程；4) 該ベクターで該生物を形質転換する工程；および5) 該生物を相同的組換えが生じる条件下に配置する工程、を包含する、方法を提供する。本発明はさらに、超耐熱菌ゲノムおよびそのアレイを提供する。

明細書

遺伝子のターゲティング破壊法および超耐熱菌ゲノム、 ならびにこれらを利用したゲノムチップ

5

技術分野

本発明は、ゲノム遺伝学に関する。より詳細には、本発明は、超好熱始原菌のゲノムおよびゲノムチップに関する。本発明はまた、新規ターゲティング破壊のための方法に関する。

10

背景技術

超好熱始原菌は、高温で生存するので、この微生物が生産するタンパク質（例えば、酵素）は、一般に高度に耐熱性である（すなわち、構造的に安定である）。さらに、超好熱始原菌が属する始原菌は従来から知られていた原核生物および真核生物とは異なる生物であると提唱されていることから明らかなように、
15 進化的にもこれらの生物とは異なる。従って、たとえ原核生物および真核生物に由来する公知の酵素などと類似の機能を有していても、超好熱始原菌由来の酵素は、構造的にも酵素学的にも従来の酵素とは異なる場合が多い。例えば、超好熱始原菌KOD-1株（*Thermococcus kodakaraensis* KOD1、以下KOD1またはKOD1株ともいう；Morikawa, M. ら、Appl. Environ. Microbiol. 60 (12),
20 4559-4566 (1994)) から単離されたシャペロニン（Chaperonin）は、*Escherichia coli* 由来のGroELと同様の機能を有している。しかし、GroELがこれ自体が14量体を形成し、さらに7量体を形成しているGroESとともに複合体を形成して機能するのに対し、KOD-1株由来のシャ
25 ペロニンは単独で機能する（Yan, Z ら、Appl. Environ. Microbiol. 63: 785-789）。

一方、遺伝子のターゲティング破壊のための方法として従来プラスミドを用いた遺伝子破壊が知られている (Bartolucci S., Third International Congress on Extremophiles Hamburg, Germany, September 3-7, 2000)。Bartolucciの方法は、耐熱性菌を用いた組換えタンパク質の同種および異種の発現系を利用する。この方法では、ターゲッティングした遺伝子が確実に破壊されるかどうかが不定で、効率よいターゲティング破壊ができるとは言えない。

したがって、一部の遺伝子のみの情報を基にした遺伝子ターゲティングにはおのずから限界がある。

したがって、本発明は、上記状況に鑑み、生物のゲノムの任意の場所で効率よく確実な遺伝子ターゲティングの方法およびそのためのキットを提供することを目的とする。

また、超耐熱菌のゲノム全体をチップに載せることによって、ゲノム全体を効率よくおよび／または全体として解析する方法は、いまだに存在していない。本発明はまた、そのようなゲノム全体を効率よくおよび／または全体として解析するための技術を開発することを目的とする。

発明の要旨

上記課題は、ある生物のゲノムの全配列の情報を利用し、染色体自体の一部をターゲティングすることによって解決された。本発明では特に、あるゲノム配列の一例として、耐熱性菌の一つである *Thermococcus kodakaraensis* KOD1株のゲノムの全配列を決定し、上記方法が効率よくかつ確実に実施され得ることを実証した。

本発明はまた、耐熱性菌の一つである *Thermococcus kodakaraensis* KOD1株のゲノムの全配列を決定することによって、

ゲノム全体を効率よくおよび／または全体として解析する技術が初めて提供された。したがって、チップ上で、生物自体の遺伝子発現のシミュレーションが可能となった。

したがって、本発明は、以下を提供する。

- 5 1) 生物のゲノムにおける任意の遺伝子をターゲティング破壊するための方法であって、
 - A) 上記生物のゲノムの全配列の情報を提供する工程；
 - B) 上記配列の任意の少なくとも1つの領域を選択する工程；
 - C) 上記選択された領域と相同な配列、およびマーカー遺伝子を含むベクタ
 - 10 ーを提供する工程；
 - D) 上記ベクターで上記生物を形質転換する工程；および
 - E) 上記生物を相同的組換えが生じる条件下に配置する工程、を包含する、方法。
- (2) 上記工程B)において、上記領域は少なくとも2つ選択される、項目1
- 15 に記載の方法。
- (3) 上記ベクターは、プロモーターをさらに含む、項目1に記載の方法。
- (4) 上記マーカー遺伝子の発現産物を検出する工程をさらに包含する、項目1に記載の方法。
- (5) 上記マーカー遺伝子は、上記選択された領域内に配置される、項目1に
- 20 記載の方法。
- (6) 上記マーカー遺伝子は、上記選択された領域の外に配置される、項目1に記載の方法。
- (7) 上記ゲノムは、*Thermococcus kodakaraensis* KOD1のゲノムである、項目1に記載の方法。
- 25 (8) 上記ゲノムは、配列番号1または1087に示される配列を有する、項目1に記載の方法。

(9) 上記領域は、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つの配列をコードする配列を含む、項目1に記載の方法。

5 (10) 配列番号1または1087に示される配列を有する、核酸分子。

(11) 配列番号1または1087に示される配列の少なくとも8の連続する核酸配列を含む、核酸分子。

(12) 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より
10 選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列をコードする配列を含む、核酸分子。

(13) 表2の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ または $f-3$ の場合、表2に示される配列番号1の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列を有するか、あるいは表2の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号1087の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列を有する、核酸分子。
15

(14) 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より
20 選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列を含む、ポリペプチド。

(15) 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より
25 選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列の少なくとも3つの連続するアミノ酸配列を含む、ポリペプチ

ド。

(16) 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088
～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より
選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%
5 相同である配列の少なくとも8つの連続するアミノ酸配列を含む、ポリペプチ
ド。

(17) 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088
～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より
選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%
10 相同である配列の少なくとも3つの連続するアミノ酸配列を含み、かつ、生物
学的活性を有する、ポリペプチド。

(18) 上記生物学的活性は、表2における日本語または英語による説明に示
される機能を含む、項目17に記載のポリペプチド。

(19) 耐熱性タンパク質をスクリーニングする方法であって、

- 15 A) 耐熱性生物のゲノムの全配列を提供する工程；
B) 上記配列の任意の少なくとも1つの領域を選択する工程；
C) 上記選択された領域と相同な配列、および上記耐熱性タンパク質の候補
をコードする遺伝子を含むベクターを提供する工程；
D) 上記ベクターで上記生物を形質転換する工程；
20 E) 上記耐熱性生物を相同的組換えが生じる条件下に配置する工程；
F) 相同的組換えが起きた上記耐熱性生物を選択する工程；および
G) 上記耐熱性タンパク質を同定するアッセイを行う工程、
を包含する、方法。

(20) 耐熱性タンパク質をスクリーニングするキットであって、

- 25 A) 耐熱性生物；ならびに
B) 上記耐熱性生物において選択されたある領域と相同な配列、および上記

耐熱性タンパク質の候補をコードする遺伝子を含むベクター、
を備える、キット。

(21) C) 上記耐熱性タンパク質を同定するためのアッセイシステム、
をさらに備える、項目20に記載のキット。

5 (22) 上記耐熱性生物は、超好熱始原菌である、項目20に記載のキット。

(23) 上記耐熱性生物は、*Thermococcus kodakaraensis* KOD1である、項目20に記載のキット。

(24) 生体分子チップであって、

10 配列番号1または1087に示される配列の少なくとも8の連続または不連続のヌクレオチド配列を有する核酸分子またはその改変体が少なくとも1つ支持体に配置された、
生体分子チップ。

(25) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号1または1087に示される配列を網羅するように配置される、項目24に記載の生体分子チップ。

15 (26) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号1または1087に示される配列の任意のオープンリーディングフレームを含む、項目24に記載の生体分子チップ。

(27) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号1または1087に示される配列の実質的にすべてのオープンリーディングフレームを含む、項目24
20 に記載の生体分子チップ。

(28) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つの配列をコードする配列を含む、項目24に記載の生体分子チップ。

25 (29) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および

1 8 3 9～2 1 5 7からなる配列をコードする配列を実質的にすべて含む、項目 2 4 に記載の生体分子チップ。

(3 0) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～1 8 3 7、および
5 1 8 3 9～2 1 5 7からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 8 の連続したヌクレオチド長を有する配列を含む、項目 2 4 に記載の生体分子チップ。

(3 1) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～1 8 3 7、および
10 1 8 3 9～2 1 5 7からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 1 5 の連続したヌクレオチド長を有する配列を含む、項目 2 4 に記載の生体分子チップ。

(3 2) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～1 8 3 7、および
15 1 8 3 9～2 1 5 7からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 3 0 の連続したヌクレオチド長を有する配列を含む、項目 2 4 に記載の生体分子チップ。

(3 3) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～1 8 3 7、および
20 1 8 3 9～2 1 5 7からなるをコードする配列の実質的にすべての配列、またはその 1 もしくは数個の置換、付加および／もしくは欠失を含む配列を含む、項目 2 4 に記載の生体分子チップ。

(3 4) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～1 8 3 7、および
25 1 8 3 9～2 1 5 7からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 8 の連続したヌクレオチド長を有する配列、またはその 1 もしくは

数個の置換、付加および／もしくは欠失を含む配列を含む、項目 24 に記載の生体分子チップ。

(35) 上記核酸分子またはその改変体は、表 2 の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ または $f-3$ の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号 (センス鎖、開始) の位置から核酸番号 (センス鎖、終結) の位置までの配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列を有するか、あるいは表 2 の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号 1087 の核酸番号 (アンチセンス鎖、開始) の位置から核酸番号 (アンチセンス鎖、終結) の位置までの配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列を有する、項目 24 に記載の生体分子チップ。

(36) 上記支持体は、アドレス可能である、項目 24 に記載の生体分子チップ。

(37) 配列番号 2~341、343~722、724~1086、1088~1468、1470~1837、および 1839~2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体が少なくとも 1 つ支持体に配置された、生体分子チップ。

(38) 上記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2~341、343~722、724~1086、1088~1468、1470~1837、および 1839~2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列の少なくとも 3 つの連続するアミノ酸配列を含む、項目 37 に記載の生体分子チップ。

(39) 上記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2~341、343~722、724~1086、1088~1468、1470~1837、および 1839~2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列の少なくとも 8 つの連

続するアミノ酸配列を含む、項目 37 に記載の生体分子チップ。

(40) 上記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2 ～ 341、343
～ 722、724 ～ 1086、1088 ～ 1468、1470 ～ 1837、お
よび 1839 ～ 2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸
5 配列またはその配列と少なくとも 70 % 相同である配列の少なくとも 3 つの連
続するまたは不連続のアミノ酸配列を含み、かつ、生物学的活性を有する、項
目 37 に記載の生体分子チップ。

(41) 上記生物学的活性は、表 2 における日本語または英語による説明に示
される機能を含む、項目 40 に記載の生体分子チップ。

10 (42) 上記生物学的活性は、エピトープ活性を含む、項目 40 に記載の生体
分子チップ。

(43) 配列番号 1 または 1087 に示される配列の少なくとも 8 の連続また
は不連続のヌクレオチド配列を有する核酸分子またはその改変体の核酸配列の
情報が格納された、記録媒体。

15 (44) 上記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2 ～ 341、343 ～ 7
22、724 ～ 1086、1088 ～ 1468、1470 ～ 1837、および
1839 ～ 2157 からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の
少なくとも 8 の連続したヌクレオチド長を有する配列、またはその 1 もしくは
数個の置換、付加および／もしくは欠失を含む配列を含む、項目 43 に記載の
20 記録媒体。

(45) 上記核酸分子またはその改変体は、表 2 の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ ま
たは $f-3$ の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）
の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少
なくとも 70 % 相同である配列を有するか、あるいは表 2 の読み枠が $r-1$ 、
25 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号 1087 の核酸番号（アンチセンス鎖、
開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列または

その配列と少なくとも70%相同である配列を有する、項目43に記載の記録媒体。

(46) 配列番号2~341、343~722、724~1086、1088~1468、1470~1837、および1839~2157からなる群より
5 選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体のアミノ配列の情報が格納された、記録媒体。

(47) 上記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号2~341、343~722、724~1086、1088~1468、1470~1837、お
10 よび1839~2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列の少なくとも3つの連続するアミノ酸配列を含む、項目46に記載の記録媒体。

(48) 上記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号2~341、343~722、724~1086、1088~1468、1470~1837、お
15 よび1839~2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列の少なくとも8つの連続するアミノ酸配列を含む、項目46に記載の記録媒体。

(49) 上記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号2~341、343~722、724~1086、1088~1468、1470~1837、お
20 よび1839~2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列の少なくとも3つの連続するまたは不連続のアミノ酸配列を含み、かつ、生物学的活性を有する、項目46に記載の記録媒体。

(50) 上記生物学的活性は、表2における日本語または英語による説明に示
25 される機能を含み、上記機能に関する情報が格納される、項目49に記載の記録媒体。

(5 1) 配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～ 7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8
～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる群より
選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 7 0 %
相同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体に対する抗体が少なく
5 とも 1 つ支持体に配置された、生体分子チップ。

(5 2) 表 2 の読み枠が f - 1、f - 2 または f - 3 の場合、表 2 に示される
配列番号 1 の核酸番号 (センス鎖、開始) の位置から核酸番号 (センス鎖、終
結) の位置までの配列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列、あ
るいは表 2 の読み枠が r - 1、r - 2 または r - 3 の場合、配列番号 1 0 8 7
10 の核酸番号 (アンチセンス鎖、開始) の位置から核酸番号 (アンチセンス鎖、
終結) の位置までの配列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列と、
相同な配列を有する RNA i 分子。

(5 3) 少なくとも 1 0 ヌクレオチド長の二本鎖部分を含む RNA またはその
改変体である、項目 5 2 に記載の RNA i 分子。

15 (5 4) 3' 突出末端を含む、項目 5 2 に記載の RNA i 分子。

(5 5) 上記 3' 突出末端は、2 ヌクレオチド長以上の DNA である、項目 5
4 に記載の RNA i 分子。

上記生体分子チップは、DNA チップ、プロテインチップなどであり得る。

以下に、本発明の好ましい実施形態を示すが、当業者は本発明の説明および
20 当該分野における周知慣用技術からその実施形態などを適宜実施することがで
き、本発明が奏する作用および効果を容易に理解することが認識されるべきで
ある。

図面の簡単な説明

25 図 1 は、ダブルクロスオーバー破壊の概念図である。

図 2 は、ダブルクロスオーバー破壊で用いた Linear DNA の構造の

模式図である。

図 3 は、シングルクロスオーバー破壊の概念図である。

図 4 は、ゲノムの構成を示す図である。

図 5 は、ゲノムの構成を示す別の図である。

5 図 6 は、ゲノムの構成を示す別の図である。

図 7 は、ゲノム生体分子チップの例示的概略図である。

配列表の説明は、別の表（表 2）に示される。

10 発明の実施の形態

以下に本発明の最良の形態を説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。従って、単数形の冠詞（例えば、英語の場合は「a」「an」「the」など、独語の場合の「ein」「der」「das」「die」などお
15 よびその格変化形、仏語の場合の「un」「une」「le」「la」など、スペイン語における「un」「una」「el」「la」など、他の言語における対応する冠詞、形容詞など）は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられること
20 が理解されるべきである。したがって、他に定義されない限り、本明細書中で使用される全ての専門用語および科学技術用語は、本発明の属する分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。矛盾する場合、本明細書（定義を含めて）が優先する。

以下に提供される実施形態は、本発明のよりよい理解のために提供されるものであり、本発明の範囲は以下の記載に限定されるべきでないことが理解され
25 る。従って、当業者は、本明細書中の記載を参酌して、本発明の範囲内で適宜

改変を行うことができることは明らかである。

(定義)

以下に本明細書において特に使用される用語の定義を列挙する。

- 5 本明細書において用いられる「生物」とは、当該分野における最も広義に用いられ、生命現象を営むものであって、ゲノムを含むものをいう。生物には、原核生物（例えば、大腸菌、超好熱始原菌など）、真核生物（例えば、植物、動物など）などが包含されるがそれらに限定されない。

- 10 本明細書において「ゲノム」とは、生物が生命活動を営むために欠くことのできない染色体の1組の遺伝子群をいう。細菌、ファージ、ウイルスなどのような一倍体の生物では、それらの種を規定する遺伝情報を担う1つのDNA分子またはRNA分子そのものがゲノムに相当する。他方、多くの真核生物にみられるような二倍体の生物では生殖細胞に1組のゲノム（例えば、ヒトでは23、マウスでは20の染色体）を有し、体細胞中に2組のゲノムを有する。

- 15 本明細書において「遺伝子」とは、遺伝形質を規定する因子をいう。通常染色体上に一定の順序に配列している。タンパク質の一次構造を規定する構造遺伝子といい、その発現を左右するものを調節遺伝子という。本明細書では「遺伝子」は「ポリヌクレオチド」「オリゴヌクレオチド」および「核酸」と同義で用いられ得る。本明細書において場合によっては「遺伝子」は、「タンパク質」「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」をさすことが
20 ある。

- 25 本明細書において使用される用語「タンパク質」、「ポリペプチド」「オリゴペプチド」および「ペプチド」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマーをいう。このポリマーは、直鎖であっても分岐していてもよく、環状であってもよい。アミノ酸は、天然のものであっても非天然のものであってもよく、改変されたアミノ酸であってもよい。この用語はま

た、複数のポリペプチド鎖の複合体へとアセンブルされたものを包含し得る。
この用語はまた、天然または人工的に改変されたアミノ酸ポリマーも包含する。
そのような改変としては、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂
質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作もしくは改変（例えば、標
識成分との結合体化）。この定義にはまた、例えば、アミノ酸の1または2以上
のアナログを含むポリペプチド（例えば、非天然のアミノ酸などを含む）、ペプ
チド様化合物（例えば、ペプトイド）および当該分野において公知の他の改変
が包含される。配列表に示される配列を含む遺伝子産物は、通常ポリペプチド
形態をとる。本明細書では、本発明のポリペプチドは、通常、特定の配列（配
列表に記載される配列またはそれらの改変体）を有する。改変を有する配列は、
本発明において、種々の目的（例えば、診断目的）に使用され得る。

本明細書において使用される用語「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチ
ド」および「核酸」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さの
ヌクレオチドのポリマーをいう。この用語はまた「誘導体オリゴヌクレオチド」
または「誘導体ポリヌクレオチド」を含む。「誘導体オリゴヌクレオチド」また
は「誘導体ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの誘導体を含むか、または
ヌクレオチド間の結合が通常とは異なるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレ
オチドをいい、互換的に使用される。そのようなオリゴヌクレオチドとして具
体的には、例えば、2'-O-メチル-リボヌクレオチド、オリゴヌクレオチ
ド中のリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に変換された誘導体オ
リゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN3'-
P5' ホスホロアミデート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリ
ゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合とがペプチド核酸結合に
変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC
-5 プロピニルウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌク
レオチド中のウラシルがC-5 チアゾールウラシルで置換された誘導体オリゴ

ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC-5プロピニルシトシンで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換された誘導体オリゴヌクレオチド、DNA中のリボースが2'-O-プロピルリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチド中のリボースが2'-メトキシエトキシリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドなどが例示される。他にそうではないと示されなければ、特定の核酸配列はまた、明示的に示された配列と同様に、その保存的に改変された改変体（例えば、縮重コドン置換体）および相補配列を包含することが企図される。具体的には、縮重コドン置換体は、1またはそれ以上の選択された（または、すべての）コドンの3番目の位置が混合塩基および/またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作成することにより達成され得る (Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081(1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260: 2605-2608 (1985); Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8: 91-98 (1994))。本発明の遺伝子は、通常、このポリヌクレオチド形態をとる。

本明細書において使用される用語「核酸分子」もまた、本明細書において、核酸、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと互換可能に使用され、cDNA、mRNA、ゲノムDNAなどを含む。本明細書では、核酸および核酸分子は、用語「遺伝子」の概念に含まれ得る。ある遺伝子配列をコードする核酸分子はまた「スプライス変異体（バリエント、改変体）」を包含する。同様に、核酸によりコードされた特定のタンパク質は、その核酸のスプライス改変体によりコードされる任意のタンパク質を包含する。その名が示唆するように「スプライス変異体」は、遺伝子のオルタナティブスプライシングの産物である。転写後、最初の核酸転写物は、異なる（別の）核酸スプライス産物が異なるポリペプチドをコードするようにスプライスされ得る。スプライス変異体の産生機構は変化するが、エキソンのオルタナティブスプライシングを含む。読

み過し転写により同じ核酸に由来する別のポリペプチドもまた、この定義に含まれる。スプライシング反応の任意の産物（組換え形態のスプライス産物を含む）がこの定義に含まれる。したがって、本明細書では、たとえば、配列表に具体的に記載される配列を含む遺伝子のほかに、そのスプライス変異体もまた本発明に包含されることが理解される。このような変異体は、種々の検定において有用であり得る。

本明細書において「アミノ酸」は、本発明の目的を満たす限り、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体アミノ酸」または「アミノ酸アナログ」とは、天然に存在するアミノ酸とは異なるがもとのアミノ酸と同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体アミノ酸およびアミノ酸アナログは、当該分野において周知である。

本明細書において「天然のアミノ酸」とは、天然のアミノ酸のL-異性体を意味する。天然のアミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、メチオニン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、システイン、プロリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、 γ -カルボキシグルタミン酸、アルギニン、オルニチン、およびリジンである。特に示されない限り、本明細書でいう全てのアミノ酸はL体であるが、D体のアミノ酸を用いた形態もまた本発明の範囲内にある。

本明細書において「非天然アミノ酸」とは、タンパク質中で通常は天然に見出されないアミノ酸を意味する。非天然アミノ酸の例として、ノルロイシン、パラ-ニトロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、パラ-フルオロフェニルアラニン、3-アミノ-2-ベンジルプロピオン酸、ホモアルギニンのD体またはL体およびD-フェニルアラニンが挙げられる。

本明細書において「アミノ酸アナログ」とは、アミノ酸ではないが、アミノ酸の物性および／または機能に類似する分子をいう。アミノ酸アナログとして

は、例えば、エチオニン、カナバニン、2-メチルグルタミンなどが挙げられるがそれらに限定されない。アミノ酸アナログの例としてのアミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様な様式で機能する化合物をいう。

- 5 本明細書において「ヌクレオチド」は、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体ヌクレオチド」または「ヌクレオチドアナログ」とは、天然に存在するヌクレオチドとは異なるがもとのヌクレオチドと同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログは、当該分野において周知である。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチド
- 10 アナログの例としては、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2-O-メチルリボヌクレオチド、ペプチド-核酸（PNA）が含まれるが、これらに限定されない。

- アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌ
- 15 クレオチドも同様に、一般に認知された1文字コードにより言及され得る。

- 本明細書において「対応する」アミノ酸および核酸とは、それぞれあるポリペプチドおよび核酸分子において、比較の基準となるポリペプチドおよび核酸分子における所定のアミノ酸および核酸と同様の作用を有するか、または有す
- 20 ることが予測されるアミノ酸および核酸をいい、特に酵素分子にあっては、活性部位中の同様の位置に存在し触媒活性に同様の寄与をするアミノ酸およびそれをコードする核酸をいう。例えば、アンチセンス分子であれば、そのアンチセンス分子の特定の部分に対応するオルソログにおける同様の部分であり得る。

- 本明細書において「対応する」遺伝子（例えば、ポリペプチド、核酸分子など）とは、ある種において、比較の基準となる種における所定の遺伝子と同様の作用を有するか、または有することが予測される遺伝子をいい、そのような
- 25

作用を有する遺伝子が複数存在する場合、進化学的に同じ起源を有するものをいう。従って、ある遺伝子の対応する遺伝子は、その遺伝子のオルソログであり得る。したがって、本発明の各々の遺伝子に対応する遺伝子は、他の生物においても見出すことができる。そのような対応する遺伝子は、当該分野において周知の技術を用いて同定することができる。したがって、例えば、ある生物における対応する遺伝子は、対応する遺伝子の基準となる遺伝子（例えば、配列表に示される配列を含む遺伝子）の配列をクエリ配列として用いてその生物（例えば、他の超耐熱菌など）の配列データベースを検索することによって見出すことができる。

- 10 本明細書において「フラグメント」とは、全長のポリペプチドまたはポリヌクレオチド（長さが n ）に対して、 $1 \sim n-1$ までの配列長さを有するポリペプチドまたはポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリペプチドの場合、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、
- 15 40、50およびそれ以上のアミノ酸が挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11など）もまた、下限として適切であり得る。また、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11
- 20 など）もまた、下限として適切であり得る。本明細書において、ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの長さは、上述のようにそれぞれアミノ酸または核酸の個数で表すことができるが、上述の個数は絶対的なものではなく、同じ機能を有する限り、上限または加減としての上述の個数は、その個数の上下数個（または例えば上下10%）のものも含むことが意図される。そのような意図を表現するために、本明細書では、個数の前に「約」を付けて表現することがある。
- 25 しかし、本明細書では「約」のあるなしはその数値の解釈に影響を与えないこ

とが理解されるべきである。

本明細書において生物学的因子（例えば、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド）に対して「特異的に相互作用する因子」または「特異的な因子」とは、交換可能に使用され、その生物学的因子（例えば、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド）に対する親和性が、他の無関連の（特に、同一性が30%未満のもの。あるいは、ある特定の場合、同一性99%未満のもの。さらに別の実施形態では、点変異のみの相違を有するものなど）生物学的因子（例えば、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド）に対する親和性よりも、代表的には同等またはより高いか、好ましくは有意に高いものをいう。そのような親和性は、例えば、ハイブリダイゼーションアッセイ、結合アッセイなどによって測定することができる。生物学的因子がポリペプチドの場合、そのポリペプチドに特異的な因子には、特異的抗体が含まれ、特定の実施形態では、本発明の特異的な因子には、この特異的抗体に対して特異的な因子を含み得ることが理解される。このような特異的抗体に対して特異的な因子には、目的とするポリペプチド自体が含まれることが理解される。

本明細書において「因子」としては、意図する目的を達成することができる限りどのような物質または他の要素（例えば、エネルギー）でもあってもよい。そのような物質としては、例えば、タンパク質（例えば、抗体を含む）、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、核酸（例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、mRNAのようなRNAを含む）、ポリサッカリド、オリゴサッカリド、脂質、有機低分子（例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）など）、これらの複合分子（例えば、糖タンパク質、糖脂質など）が挙げられるがそれらに限定されない。ポリヌクレオチドに対して特異的な因子としては、代表的には、そのポリヌクレオチドの配列に対して

一定の配列相同性を（例えば、70%以上の配列同一性）もって相補性を有するポリヌクレオチド、プロモーター領域に結合する転写因子のようなポリペプチドなどが挙げられるがそれらに限定されない。したがって、そのような因子としては、例えば、アンチセンス、RNAiなどが挙げられるがそれらに限定

5 されない。ポリペプチドに対して特異的な因子としては、代表的には、そのポリペプチドに対して特異的に指向された抗体またはその誘導体あるいはその類似物（例えば、単鎖抗体）、そのポリペプチドがレセプターまたはリガンドである場合の特異的なリガンドまたはレセプター、そのポリペプチドが酵素である場合、その基質などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 10 本明細書において「有機低分子」とは、有機分子であって、比較的分子量が小さなものをいう。通常有機低分子は、分子量が約1000以下のものをいうが、それ以上のものであってもよい。有機低分子は、通常当該分野において公知の方法を用いるかそれらを組み合わせて合成することができる。そのような有機低分子は、生物に生産させてもよい。有機低分子としては、例えば、ホル
- 15 モン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 本明細書において「抗体」は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、および抗イディオタイプ
- 20 プ抗体、ならびにそれらの断片、例えばF(a b')₂およびF a b断片、ならびにその他の組換えにより生産された結合体を含む。さらにこのような抗体を、酵素、例えばアルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、αガラクトシダーゼなど、に共有結合させまたは組換えにより融合させてよい。

- 本明細書中で使用される「モノクローナル抗体」は、同質な抗体集団を有する抗体組成物をいう。この用語は、それが作製される様式では限定されない。
- 25 この用語は、全免疫グロブリン分子ならびにF a b分子、F(a b')₂フラグ

メント、F_vフラグメント、およびもとのモノクローナル抗体分子の免疫学的結合特性を示す他の分子を含む。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を作製する方法は当該分野で公知であり、そして以下でより十分に記載される。

- 5 モノクローナル抗体は、当該分野で周知の標準的な技術（例えば、K o h l e rおよびM i l s t e i n, N a t u r e (1975) 256:495) またはその改変（例えば、B u c kら(1982) I n V i t r o 18:377) を使用して調製される。代表的には、マウスまたはラットを、タンパク質キャリアに結合したタンパク質で免疫化し、追加免疫し、そして脾臓（および必要に応じていくつかの大きなリンパ節）を取り出し、そして単一細胞を解離する。必要に応じて、この脾臓細胞は、非特異的接着細胞の除去後、抗原でコーティングされたプレートまたはウェルに細胞懸濁液を適用することにより、スクリーニングされ得る。抗原に特異的なイムノグロブリンを発現するB細胞がプレートに結合し、そして懸濁液の残渣でもリンス除去されない。次いで、
10 得られたB細胞（すなわちすべての剥離した脾臓細胞）をミエローマ細胞と融合させて、ハイブリドーマを得、このハイブリドーマを用いてモノクローナル抗体を産生させる。

- 20 本明細書において「抗原」(a n t i g e n) とは、抗体分子によって特異的に結合され得る任意の基質をいう。本明細書において「免疫原」(i m m u n o g e n) とは、抗原特異的免疫応答を生じるリンパ球活性化を開始し得る抗原をいう。

本明細書において「単鎖抗体」とは、F_v領域の重鎖フラグメントおよび軽鎖フラグメントがアミノ酸架橋を介して連結されることによって形成され、単鎖ポリペプチドを生じたものをいう。

- 25 本明細書において「複合分子」とは、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、脂質、糖、低分子などの分子が複数種連結してできた分子をいう。そのような複

合分子としては、例えば、糖脂質、糖ペプチドなどが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書では、F I R、C E N P - A などの遺伝子またはその産物あるいは本発明の因子と同様の機能を有する限り、それぞれ F I R、C E N P - A などの遺伝子またはその産物あるいは本発明の因子としてそのような複
5 合分子も使用することができる。

本明細書において「単離された」物質（例えば、核酸またはタンパク質など
のような生物学的因子）とは、その物質が天然に存在する環境（例えば、生物
体の細胞内）の他の物質（好ましくは、生物学的因子）（例えば、核酸である場
合、核酸以外の因子および目的とする核酸以外の核酸配列を含む核酸；タンパ
10 ク質である場合、タンパク質以外の因子および目的とするタンパク質以外のア
ミノ酸配列を含むタンパク質など）から実質的に分離または精製されたものを
いう。「単離された」核酸およびタンパク質には、標準的な精製方法によって精
製された核酸およびタンパク質が含まれる。したがって、単離された核酸およ
びタンパク質は、化学的に合成した核酸およびタンパク質を包含する。

15 本明細書において「精製された」物質（例えば、核酸またはタンパク質など
のような生物学的因子）とは、その物質に天然に随伴する因子の少なくとも一
部が除去されたものをいう。したがって、通常、精製された物質におけるその
物質の純度は、その物質が通常存在する状態よりも高い（すなわち濃縮されて
いる）。

20 本明細書において「精製された」および「単離された」とは、好ましくは少
なくとも 75 重量%、より好ましくは少なくとも 85 重量%、よりさらに好ま
しくは少なくとも 95 重量%、そして最も好ましくは少なくとも 98 重量%の、
同型の物質が存在することを意味する。

本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなど遺伝子産物
25 の「発現」とは、その遺伝子（通常は、DNA 形態）などがインビボで一定の
作用を受けて、別の形態になることをいう。好ましくは、遺伝子、ポリヌクレ

オチドなどが、転写および翻訳されて、ポリペプチドの形態になることをいうが、転写されてmRNAが作製されることもまた発現の一形態であり得る。別の実施形態では、そのようなポリペプチドの形態は、翻訳後プロセッシングを受けたものであり得る。

- 5 従って、本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現」の「減少」とは、本発明の因子を作用させたときに、作用させないときよりも、発現の量が有意に減少することをいう。好ましくは、発現の減少は、ポリペプチドの発現量の減少を含む。本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現」の「増加」とは、本発明の因子を作用させたときに、作用させないときよりも、発現の量が有意に増加することをいう。
- 10 好ましくは、発現の増加は、ポリペプチドの発現量の増加を含む。本明細書において遺伝子の「発現」の「誘導」とは、ある細胞にある因子を作用させてその遺伝子の発現量を増加させることをいう。したがって、発現の誘導は、まったくその遺伝子の発現が見られなかった場合にその遺伝子が発現するようにすること、およびすでにその遺伝子の発現が見られていた場合にその遺伝子の発現が増大することを包含する。
- 15

- 本明細書において、遺伝子が「特異的に発現する」とは、その遺伝子が、植物の特定の部位または時期において他の部位または時期とは異なる（好ましくは高い）レベルで発現されることをいう。特異的に発現するとは、ある部位（例えば、癌罹患部位などの特異的部位）にのみ発現してもよく、それ以外の部位においても発現していてもよい。好ましくは特異的に発現するとは、ある部位においてのみ発現することをいう。
- 20

- 本明細書において「生物学的活性」とは、ある因子（例えば、ポリペプチドまたはタンパク質）が、生体内において有し得る活性のことをいい、種々の機能（例えば、転写促進活性）を発揮する活性が包含される。例えば、2つの因子が相互作用する（例えば、本発明の遺伝子産物とその受容体とが結合する）
- 25

場合、その生物学的活性は、本発明の遺伝子産物とその受容体との間の結合およびそれによって生じる生物学的変化（例えば、アポトーシス）などを包含する。例えば、ある因子が酵素である場合、その生物学的活性は、その酵素活性を包含する。別の例では、ある因子がリガンドである場合、そのリガンドが対応するレセプターへの結合を包含する。そのような生物学的活性は、当該分野において周知の技術によって測定することができる。あるいは、本発明においては、生体内にある改変体分子と同様の活性を有する場合もまた、生物学的活性を有するとの定義に含め得る。

本明細書において「アンチセンス（活性）」とは、標的遺伝子の発現を特異的に抑制または低減することができる活性をいう。アンチセンス活性は、通常、目的とする遺伝子（例えば、本発明の遺伝子など）の核酸配列と相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列によって達成される。そのような活性を有する核酸分子をアンチセンス分子という。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。そのような核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、もっとも好ましくは95%相同な核酸配列が含まれる。そのようなアンチセンス活性は、目的とする遺伝子の核酸配列の5'末端の配列に対して相補的であることが好ましい。そのようなアンチセンスの核酸配列には、上述の配列に対して、1つまたは数個あるいは1つ以上のヌクレオチドの置換、付加および／または欠失を有するものもまた含まれる。

本明細書において「RNA i」とは、RNA interferenceの略称で、二本鎖RNA（dsRNAともいう）のようなRNA iを引き起こす因子を細胞に導入することにより、相同なmRNAが特異的に分解され、遺伝子産物の合成が抑制される現象およびそれに用いられる技術をいう。本明細書
5 においてRNA iはまた、場合によっては、RNA iを引き起こす因子と同義に用いられ得る。

本明細書において「RNA iを引き起こす因子」とは、RNA iを引き起こすことができるような任意の因子をいい、本明細書では、「RNA i分子」ともいう。本明細書において「遺伝子」に対して「RNA iを引き起こす因子」と
10 は、その遺伝子に関するRNA iを引き起こし、RNA iがもたらす効果（例えば、その遺伝子の発現抑制など）が達成されることをいう。そのようなRNA iを引き起こす因子としては、例えば、標的遺伝子の核酸配列の一部に対して少なくとも約70%の相同性を有する配列またはストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列を含む、少なくとも10ヌクレオチド長の二本鎖部
15 分を含むRNAまたはその改変体が挙げられるがそれに限定されない。ここで、この因子は、好ましくは、3' 突出末端を含み、より好ましくは、3' 突出末端は、2ヌクレオチド長以上のDNA（例えば、2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

理論に束縛されないが、RNA iが働く機構として考えられるものの一つとして、dsRNAのようなRNA iを引き起こす分子が細胞に導入されると、
20 比較的長い（例えば、40塩基対以上）RNAの場合、ヘリカーゼドメインを持つダイサー（Dicer）と呼ばれるRNase III様のヌクレアーゼがATP存在下で、その分子を3' 末端から約20塩基対ずつ切り出し、短鎖dsRNA（siRNAとも呼ばれる）を生じる。本明細書において「siRNA」
25 A」とは、short interfering RNAの略称であり、人工的に化学合成されるかまたは生化学的に合成されたものか、あるいは生物体内

で合成されたものか、あるいは約40塩基以上の二本鎖RNAが体内で分解されてできた10塩基対以上の短鎖二本鎖RNAをいい、通常、5'ーリン酸、3'ーOHの構造を有しており、3'末端は約2塩基突出している。このsiRNAに特異的なタンパク質が結合して、RISC (RNA-induced silencing complex) が形成される。この複合体は、siRNAと同じ配列を有するmRNAを認識して結合し、RNase III様の酵素活性によってsiRNAの中央部でmRNAを切断する。siRNAの配列と標的として切断するmRNAの配列の関係については、100%一致することが好ましい。しかし、siRNAの中央から外れた位置についての塩基の変異については、完全にRNAiによる切断活性がなくなるのではなく、部分的な活性が残存する。他方、siRNAの中央部の塩基の変異は影響が大きく、RNAiによるmRNAの切断活性が極度に低下する。このような性質を利用して、変異をもつmRNAについては、その変異を中央に配したsiRNAを合成し、細胞内に導入することで特異的に変異を含むmRNAだけを分解することができる。従って、本発明では、siRNAそのものをRNAiを引き起こす因子として用いることができるし、siRNAを生成するような因子（例えば、代表的に約40塩基以上のdsRNA）をそのような因子として用いることができる。

また、理論に束縛されることを希望しないが、siRNAは、上記経路とは別に、siRNAのアンチセンス鎖がmRNAに結合してRNA依存性RNAポリメラーゼ (RdRP) のプライマーとして作用し、dsRNAが合成され、このdsRNAが再びダイサーの基質となり、新たなsiRNAを生じて作用を増幅することも企図される。従って、本発明では、siRNA自体およびsiRNAが生じるような因子もまた、有用である。実際に、昆虫などでは、例えば35分子のdsRNA分子が、1,000コピー以上ある細胞内のmRNAをほぼ完全に分解することから、siRNA自体およびsiRNAが生じる

ような因子が有用であることが理解される。

本発明において s i R N A と呼ばれる、約 20 塩基前後（例えば、代表的には約 21 ～ 23 塩基長）またはそれ未満の長さの二本鎖 R N A を用いることができる。このような s i R N A は、細胞に発現させることにより遺伝子発現を
5 抑制し、その s i R N A の標的となる病原遺伝子の発現を抑えることから、疾患の治療、予防、予後などに使用することができる。

本発明において用いられる s i R N A は、R N A i を引き起こすことができる限り、どのような形態を採っていてもよい。

別の実施形態において、本発明の R N A i を引き起こす因子は、3' 末端に
10 突出部を有する短いヘアピン構造（s h R N A ; s h o r t h a i r p i n R N A）であり得る。本明細書において「s h R N A」とは、一本鎖 R N A で部分的に回文状の塩基配列を含むことにより、分子内で二本鎖構造をとり、ヘアピンのような構造となる約 20 塩基対以上の分子をいう。そのような s h R N A は、人工的に化学合成される。あるいは、そのような s h R N A は、センス鎖およびアンチセンス鎖の D N A 配列を逆向きに連結したヘアピン構造の D N A を T 7 R N A ポリメラーゼによりインビトロで R N A を合成することによって生成することができる。理論に束縛されることは希望しないが、そのような s h R N A は、細胞内に導入された後、細胞内で約 20 塩基（代表的には例えば、21 塩基、22 塩基、23 塩基）の長さに分解され、s i R N A と同様に R N A i を引き起こし、本発明の処置効果があることが理解されるべきである。このような効果は、昆虫、植物、動物（哺乳動物を含む）など広汎な生物において発揮されることが理解されるべきである。このように、s h R N A は、s i R N A と同様に R N A i を引き起こすことから、本発明の有効成分として用いることができる。s h R N A はまた、好ましくは、3' 突出末端を有し得る。二本鎖部分の長さは特に限定されないが、好ましくは約 10 ヌクレオチド長以上、より好ましくは約 20 ヌクレオチド長以上であり得る。ここで、
25

3' 突出末端は、好ましくはDNAであり得、より好ましくは少なくとも2ヌクレオチド長以上のDNAであり得、さらに好ましくは2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

5 本発明において用いられるRNA iを引き起こす因子は、人工的に合成した（例えば、化学的または生化学的）ものでも、天然に存在するものでも用いることができ、この両者の間で本発明の効果に本質的な違いは生じない。化学的に合成したものでは、液体クロマトグラフィーなどにより精製をすることが好ましい。

10 本発明において用いられるRNA iを引き起こす因子は、インビトロで合成することもできる。この合成系において、T7 RNAポリメラーゼおよびT7プロモーターを用いて、鋳型DNAからアンチセンスおよびセンスのRNAを合成する。これらをインビトロでアニーリングした後、細胞に導入すると、上述のような機構を通じてRNA iが引き起こされ、本発明の効果が達成される。ここでは、例えば、リン酸カルシウム法でそのようなRNAを細胞内に導
15 入することができる。

本発明のRNA iを引き起こす因子としてはまた、mRNAとハイブリダイズし得る一本鎖、あるいはそれらのすべての類似の核酸アナログのような因子も挙げられる。そのような因子もまた、本発明の処置方法および組成物において有用である。

20 本明細書において「ストリンジेंटな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチド」とは、当該分野で慣用される周知の条件をいう。本発明のポリヌクレオチド中から選択されたポリヌクレオチドをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、ブランク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法等を用いることにより、そのようなポリ
25 ヌクレオチドを得ることができる。具体的には、ストリンジेंटな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチドは、コロニーあるいはブランク由来のDN

Aを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0MのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC (s a l i n e - s o d i u m c i t r a t e) 溶液 (1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM 塩化ナトリウム、15mM クエン酸ナトリウムである) を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるポリヌクレオチドを意味する。ハイブリダイゼーションは、Molecular Cloning 2nd ed., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1-38, DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995) 等の実験書に記載されている方法に準じて行うことができる。ここで、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列からは、好ましくは、A配列のみまたはT配列のみを含む配列が除外される。「ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド」とは、上記ハイブリダイズ条件下で別のポリヌクレオチドにハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドをいう。ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドとして具体的には、本発明で具体的に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするDNAの塩基配列と少なくとも60%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、好ましくは80%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、さらに好ましくは95%以上の相同性を有するポリヌクレオチドを挙げることができる。

本明細書において「高度にストリンジェントな条件」は、核酸配列において高度の相補性を有するDNA鎖のハイブリダイゼーションを可能にし、そしてミスマッチを有意に有するDNAのハイブリダイゼーションを除外するように設計された条件をいう。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、主に、温度、イオン強度、およびホルムアミドのような変性剤の条件によって決定される。このようなハイブリダイゼーションおよび洗浄に関する「高度にストリンジェントな条件」の例は、0.0015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、65～68℃、または0.015M 塩化ナトリウ

ム、0.0015M クエン酸ナトリウム、および50% ホルムアミド、42℃
である。このような高度にストリンジェントな条件については、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory (Cold Spring Harbor, N, Y. 1989);
5 およびAnderson et al., Nucleic Acid Hybridization: a Practical approach、IV、IRL Press Limited (Oxford, England). Limited, Oxford, Englandを参照のこと。必要により、よりストリン
10 ジェントな条件（例えば、より高い温度、より低いイオン強度、より高いホルムアミド、または他の変性剤）を、使用してもよい。他の薬剤が、非特異的なハイブリダイゼーションおよび／またはバックグラウンドのハイブリダイゼーションを減少する目的で、ハイブリダイゼーション緩衝液および洗浄緩衝液に含まれ得る。そのような他の薬剤の例としては、0.1%ウシ血清アルブミン、
15 0.1%ポリビニルピロリドン、0.1%ピロリン酸ナトリウム、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム (NaDodSO_4 またはSDS)、Ficoll、Denhardt溶液、超音波処理されたサケ精子DNA（または別の非相補的DNA）および硫酸デキストランであるが、他の適切な薬剤もまた、使用され得る。これらの添加物の濃度および型は、ハイブリダイゼーション条件のストリン
20 ジェンシーに実質的に影響を与えることなく変更され得る。ハイブリダイゼーション実験は、通常、pH6.8~7.4で実施されるが；代表的なイオン強度条件において、ハイブリダイゼーションの速度は、ほとんどpH独立である。Anderson et al., Nucleic Acid Hybridization: a Practical Approach、第4章、IRL Press Limited (Oxford, England)を参照のこと。
25

DNA二重鎖の安定性に影響を与える因子としては、塩基の組成、長さおよ

び塩基対不一致の程度が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、当業者によって調整され得、これらの変数を適用させ、そして異なる配列関連性のDNAがハイブリッドを形成するのを可能にする。完全に一致したDNA二重鎖の融解温度は、以下の式によって概算され得る。

5
$$T_m (^{\circ}\text{C}) = 81.5 + 16.6 (\log [\text{Na}^+]) + 0.41 (\%G+C) - 600/N - 0.72 (\% \text{ホルムアミド})$$

ここで、Nは、形成される二重鎖の長さであり、 $[\text{Na}^+]$ は、ハイブリダイゼーション溶液または洗浄溶液中のナトリウムイオンのモル濃度であり、%G+Cは、ハイブリッド中の（グアニン+シトシン）塩基のパーセンテージである。
10 不完全に一致したハイブリッドに関して、融解温度は、各1%不一致（ミスマッチ）に対して約1℃ずつ減少する。

本明細書において「中程度にストリンジেন্টな条件」とは「高度にストリンジेंटな条件」下で生じ得るよりも高い程度の塩基対不一致を有するDNA二重鎖が、形成し得る条件をいう。代表的な「中程度にストリンジेंटな
15 条件」の例は、0.015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、50～65℃、または0.015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、および20%ホルムアミド、37～50℃である。例として、0.015M ナトリウムイオン中、50℃の「中程度にストリンジेंटな」条件は、約21%の不一致を許容する。

20 本明細書において「高度」にストリンジेंटな条件と「中程度」にストリンジेंटな条件との間に完全な区別は存在しないことがあり得ることが、当業者によって理解される。例えば、0.015M ナトリウムイオン（ホルムアミドなし）において、完全に一致した長いDNAの融解温度は、約71℃である。65℃（同じイオン強度）での洗浄において、これは、約6%不一致を許
25 容にする。より離れた関連する配列を捕獲するために、当業者は、単に温度を低下させ得るか、またはイオン強度を上昇し得る。

約20ヌクレオチドまでのオリゴヌクレオチドプローブについて、1M NaClにおける融解温度の適切な概算は、

$T_m = (1 \text{つのA-T塩基につき } 2^{\circ}\text{C}) + (1 \text{つのG-C塩基対につき } 4^{\circ}\text{C})$

によって提供される。なお、6×クエン酸ナトリウム塩 (SSC) におけるナ

5 トリウムイオン濃度は、1Mである (Suggsら、Developmental Biology Using Purified Genes、683頁、BrownおよびFox (編) (1981) を参照のこと)。

本発明のタンパク質をコードする天然の核酸は、例えば、配列表に示される核酸配列の一部またはその改変体を含むPCRプライマーおよびハイブリダイ
10 ザーシオンプローブを有するcDNAライブラリーから容易に分離される。好ましい本発明の遺伝子またはその改変体もしくはフラグメントなどをコードする核酸は、本質的に1%ウシ血清アルブミン (BSA); 500mM リン酸ナトリウム (NaPO_4); 1mM EDTA; 42°Cの温度で 7% SDS を含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に2×SSC (600mM
15 NaCl; 60mM クエン酸ナトリウム); 50°Cの0.1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下、さらに好ましくは本質的に50°Cの温度での1%ウシ血清アルブミン (BSA); 500mM リン酸ナトリウム (NaPO_4); 15%ホルムアミド; 1mM EDTA; 7% SDS を含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に50°Cの1×
20 SSC (300mM NaCl; 30mM クエン酸ナトリウム); 1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下、最も好ましくは本質的に50°Cの温度での1%ウシ血清アルブミン (BSA); 200mM リン酸ナトリウム (NaPO_4); 15%ホルムアミド; 1mM EDTA; 7% SDSを含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に65°Cの0.
25 5×SSC (150mM NaCl; 15mM クエン酸ナトリウム); 0.1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下に配列

番号1または1087に示す配列の1つまたはその一部とハイブリダイズし得る。

本明細書において「プローブ」とは、インビトロおよび／またはインビボなどのスクリーニングなどの生物学的実験において用いられる、検索の対象となる物質をいい、例えば、特定の塩基配列を含む核酸分子または特定のアミノ酸配列を含むペプチドなどが挙げられるがそれに限定されない。

通常プローブとして用いられる核酸分子としては、目的とする遺伝子の核酸配列と相同なまたは相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列を有するものが挙げられる。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。プローブとして使用される核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、95%相同な核酸配列が含まれる。

本明細書において「検索」とは、電子的にまたは生物学的あるいは他の方法により、ある核酸塩基配列を利用して、特定の機能および／または性質を有する他の核酸塩基配列を見出すことをいう。電子的な検索としては、BLAST (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990))、FASTA (Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85: 2444-2448 (1988))、Smith and Waterman法 (Smith and Waterman, J. Mol. Biol. 147: 195-197 (1981))、およびNeedleman and Wunsch法 (Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443-453 (1970))などが挙げられるがそれらに限定されない。

生物学的な検索としては、ストリンジェントハイブリダイゼーション、ゲノム DNAをナイロンメンブレン等に貼り付けたマクロアレイまたはガラス板に貼り付けたマイクロアレイ（マイクロアレイアッセイ）、PCRおよび *in situ*ハイブリダイゼーションなどが挙げられるがそれらに限定されない。本
5 明細書において、FIR、CENP-Aなどには、このような電子的検索、生物学的検索によって同定された対応遺伝子も含まれるべきであることが意図される。

本明細書における「プライマー」とは、高分子合成酵素反応において、合成される高分子化合物の反応の開始に必要な物質をいう。核酸分子の合成反応で
10 は、合成されるべき高分子化合物の一部の配列に相補的な核酸分子（例えば、DNAまたはRNAなど）が用いられ得る。

通常プライマーとして用いられる核酸分子としては、目的とする遺伝子の核酸配列と相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列を有するものが挙げられる。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、16の連続するヌクレオチド長の、17の連続するヌクレオチド長の、18の連続するヌクレオチド長の、19の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。プローブとして使用される核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、
25 95%相同な核酸配列が含まれる。プライマーとして適切な配列は、合成（増幅）が意図される配列の性質によって変動し得るが、当業者は、意図される配

列に応じて適宜プライマーを設計することができる。そのようなプライマーの設計は当該分野において周知であり、手動でおこなってもよくコンピュータプログラム（例えば、LASERGENE, Primer Select, DNASTar）を用いて行ってもよい。

- 5 本明細書において「エピトープ」とは、抗原を決定する構造を構成する基のことをいう。従って、エピトープには特定の免疫グロブリンによる認識に関与するアミノ酸残基のセット、または、T細胞の場合は、T細胞レセプタータンパク質および／もしくは主要組織適合性複合体（MHC）レセプターによる認識について必要であるアミノ酸残基のセットが包含される。この用語はまた「抗原決定基」または「抗原決定部位」と交換可能に使用される。免疫系分野において、インビボまたはインビトロで、エピトープは、分子の特徴（例えば、一次ペプチド構造、二次ペプチド構造または三次ペプチド構造および電荷）であり、免疫グロブリン、T細胞レセプターまたはHLA分子によって認識される部位を形成する。ペプチドを含むエピトープは、エピトープに独特な空間的コンフォメーション中に3つ以上のアミノ酸を含み得る。一般に、エピトープは、
- 10 少なくとも5つのこのようなアミノ酸からなり、代表的には少なくとも6つ、7つ、8つ、9つ、または10のこのようなアミノ酸からなる。エピトープの長さは、より長いほど、もとのペプチドの抗原性に類似することから一般的に好ましいが、コンフォメーションを考慮すると、必ずしもそうでないことがある。
- 15 アミノ酸の空間的コンフォメーションを決定する方法は、当該分野で公知であり、例えば、X線結晶学、および2次元核磁気共鳴分光法を含む。さらに、所定のタンパク質におけるエピトープの同定は、当該分野で周知の技術を使用して容易に達成される。例えば、Geysenら（1984）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998（所定の抗原における免疫
- 20 原性エピトープの位置を決定するために迅速にペプチドを合成する一般的な方法）；米国特許第4,708,871号（抗原のエピトープを同定し、そして化
- 25

学的に合成するための手順)；およびGeysenら(1986) *Molecular Immunology* 23:709 (所定の抗体に対して高い親和性を有するペプチドを同定するための技術)を参照されたい。同じエピトープを認識する抗体は、単純な免疫アッセイにおいて同定され得る。このように、

5 ペプチドを含むエピトープを決定する方法は、当該分野において周知であり、そのようなエピトープは、核酸またはアミノ酸の一次配列が提供されると、当業者はそのような周知慣用技術を用いて決定することができる。

従って、ペプチドを含むエピトープとして使用するためには、少なくとも3アミノ酸の長さの配列が必要であり、好ましくは、この配列は、少なくとも4

10 アミノ酸、より好ましくは5アミノ酸、6アミノ酸、7アミノ酸、8アミノ酸、9アミノ酸、10アミノ酸、15アミノ酸、20アミノ酸、25アミノ酸の長さの配列が必要であり得る。

本明細書において遺伝子の「相同性」とは、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。従って、ある2つの遺伝子の相同性が高いほど、

15 それらの配列の同一性または類似性は高い。2種類の遺伝子が相同性を有するか否かは、配列の直接の比較、または核酸の場合ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーション法によって調べられ得る。2つの遺伝子配列を直接比較する場合、その遺伝子配列間でDNA配列が、代表的には少なくとも50%同一である場合、好ましくは少なくとも70%同一である場合、より好ましくは

20 は少なくとも80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である場合、それらの遺伝子は相同性を有する。

本明細書では塩基配列の同一性、類似性の比較および相同性の算出は、配列分析用ツールであるBLASTを用いてデフォルトパラメータを用いて算出される。本明細書においてアミノ酸配列の同一性、類似性の比較および相同性の

25 算出もまた、配列分析用のツールであるBLASTXを用いてデフォルトパラメータを用いて算出される。

アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌクレオチドも同様に、一般に受け入れられた1文字コードにより言及され得る。

- 5 本明細書において配列（アミノ酸または核酸など）の「同一性」、「相同性」および「類似性」のパーセンテージは、必要に応じて、比較ウィンドウで最適な状態に整列された配列2つを比較することによって求められる。ここで、ポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列の比較ウィンドウ内の部分には、2つの配列の最適なアライメントについての基準配列（他の配列に付加が含ま
- 10 れていればギャップが生じることもあるが、ここでの基準配列は付加も欠失もないものとする）と比較したときに、付加または欠失（すなわちギャップ）が含まれる場合がある。同一の核酸塩基またはアミノ酸残基がどちらの配列にも認められる位置の数を求めることによって、マッチ位置の数を求め、マッチ位置の数を比較ウィンドウ内の総位置数で割り、得られた結果に100を掛けて同一
- 15 性のパーセンテージを算出する。検索において使用される場合、相同性については、従来技術において周知のさまざまな配列比較アルゴリズムおよびプログラムの中から、適当なものを用いて評価する。このようなアルゴリズムおよびプログラムとしては、TBLASTN、BLASTP、FASTA、TFASTAおよびCLUSTALW（Pearson and Lipman, 19
- 20 88, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 (8): 2444-2448、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 (3): 403-410、Thompson et al., 1994, Nucleic Acids Res. 22 (2): 4673-4680、Higgins et al., 1996, Methods Enzymol.
- 25 266: 383-402、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 (3): 403-410、Altschul et a

1., 1993, Nature Genetics 3:266-272) があるが、何らこれに限定されるものではない。特に好ましい実施形態では、従来技術において周知のBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) (たとえば、Karlin and Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2267-2268、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410、Altschul et al., 1993, Nature Genetics 3:266-272、Altschul et al., 1997, Nuc. Acids Res. 25:3389-3402を参照のこと) を用いてタンパク質および核酸配列の相同性を評価する。特に、5つの専用BLASTプログラムを用いて以下の作業を実施することによって比較または検索が達成され得る。

(1) BLASTPおよびBLAST3でアミノ酸のクエリー配列をタンパク質配列データベースと比較；

(2) BLASTNでヌクレオチドのクエリー配列をヌクレオチド配列データベースと比較；

(3) BLASTXでヌクレオチドのクエリー配列（両方の鎖）を6つの読み枠で変換した概念的翻訳産物をタンパク質配列データベースと比較；

(4) TBLASTNでタンパク質のクエリー配列を6つの読み枠（両方の鎖）すべてで変換したヌクレオチド配列データベースと比較；

(5) TBLASTXでヌクレオチドのクエリー配列を6つの読み枠で変換したものを、6つの読み枠で変換したヌクレオチド配列データベースと比較。

BLASTプログラムは、アミノ酸のクエリー配列または核酸のクエリー配列と、好ましくはタンパク質配列データベースまたは核酸配列データベースから得られた被検配列との間で「ハイスコアセグメント対」と呼ばれる類似のセグメントを特定することによって相同配列を同定するものである。ハイスコアセグメ

ント対は、多くのものが従来技術において周知のスコアリングマトリックスによって同定（すなわち整列化）されると好ましい。好ましくは、スコアリングマトリックスとしてBLOSUM62マトリックス（Gonnet et al., 1992, Science 256:1443-1445、Henikoff and Henikoff, 1993, Proteins 17:49-61）を使用する。このマトリックスほど好ましいものではないが、PAMまたはPAM250マトリックスも使用できる（たとえば、Schwartz and Dayhoff, eds., 1978, Matrices for Detecting Distance Relationships: Atlas of Protein Sequence and Structure, Washington: National Biomedical Research Foundationを参照のこと）。BLASTプログラムは、同定されたすべてのハイスコアセグメント対の統計的な有意性を評価し、好ましくはユーザー固有の相同率などのユーザーが独自に定める有意性の閾値レベルを満たすセグメントを選択する。統計的な有意性を求めるKarlinの式を用いてハイスコアセグメント対の統計的な有意性を評価すると好ましい（Karlin and Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2267-2268参照のこと）。

本明細書において、配列が「相同」であるとは、相同的組換えが起こる程度に相同性が高いことをいう。したがって、配列が「相同」であるかどうかは、染色体の変異を相補し得るDNAを生細胞内に導入し、生体内遺伝子組み換えを起こさせることにより調べることができる。そのような相同であるかどうかを調べるアッセイには、そのような相補し得るDNAの組み込みを表原型（たとえば、緑色蛍光タンパク質であれば、緑色の蛍光）を調べることによって確認する方法がある。したがって、配列が相同であるためには、代表的には、2つの配列の間の相同性が互いに少なくとも約70%相同であり、好ましくは少

なくとも約80%相同であり、より好ましくは少なくとも約90%相同であり、さらにより好ましくは少なくとも約95%相同であり、もつとも好ましくは少なくとも約99%相同であり得る。

5 本明細書において配列の「領域」とは、その配列において一定の長さを持った部分をいう。そのような領域は、一般に、ある機能を有することが多い。本発明のターゲティング破壊のために用いられる場合、配列の「領域」は、その長さが少なくとも約10ヌクレオチドであり、好ましくは、少なくとも約15ヌクレオチドであり、より好ましくは、少なくとも約20ヌクレオチドであり、さらに好ましくは少なくとも約30ヌクレオチドであり、さらに好ましくは少なくとも約50ヌクレオチドであり得る。好ましくは、そのような領域は、遺伝子の機能を担う部分を含み得る。ある好ましい実施形態では、配列の「領域」は、1または2以上の遺伝子であり得る。

本明細書において「ターゲティング」とは、遺伝子のターゲティング破壊について使用される場合、特定の遺伝子を標的とすることをいう。

15 本明細書において「生物学的活性」とは、ある因子（例えば、ポリペプチドまたはタンパク質）が、生体内において有し得る活性のことをいい、種々の機能を発揮する活性が包含される。例えば、ある因子が酵素である場合、その生物学的活性は、その酵素活性を包含する。別の例では、ある因子がリガンドである場合、そのリガンドが対応するレセプターへの結合を包含する。本発明において、おのおのの遺伝子産物は、表2の説明に記載される生物学的活性を有する。あるいは、本発明のポリペプチドは、エピトープ活性を有する。

25 本明細書において「マーカー遺伝子」とは、遺伝学的解析で標識（マーカー）として用いられる遺伝子をいう。標識遺伝子としては、通常、その機能の詳細よりも変異形質が明確で検出が容易なものが用いられる。薬剤耐性の遺伝子のほか、微生物では生化学的形質（栄養要求性など）の遺伝子がよく用いられ、形態学的形質の遺伝子もまた用いられ得る。薬剤耐性遺伝子としては、例えば、

カナマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子、アンピリシン耐性遺伝子、クロラムフェニコール耐性遺伝子、ストレプトマイシン耐性遺伝子などが挙げられるがそれらに限定されない。

5 本明細書において「ベクター」とは、目的のポリヌクレオチド配列を目的の細胞へと移入させることができるものをいう。そのようなベクターとしては、原核生物細胞、酵母、動物細胞、植物細胞、昆虫細胞、動物個体および植物個体等の宿主細胞において自律複製が可能であるか、または染色体中への組込みが可能で、本発明のポリヌクレオチドの転写に適した位置にプロモーターを含有しているものが例示される。好ましくは、そのようなベクターは、*Thermococcus kodakaraensis* KOD1内
10 *m o c c o c c u s k o d a k a r a e n s i s* KOD1内で自律複製可能なものが挙げられる。

本明細書において「発現ベクター」は、構造遺伝子およびその発現を調節するプロモーターに加えて種々の調節エレメントが宿主の細胞中で作動し得る状態で連結されている核酸配列をいう。調節エレメントは、好ましくは、ターミ
15 ネーター、薬剤耐性遺伝子（例えば、カナマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子など）のような選択マーカーおよび、エンハンサーを含み得る。生物（例えば、植物）の発現ベクターのタイプおよび使用される調節エレメントの種類が、宿主細胞に応じて変わり得ることは、当業者に周知の事項である。植物の場合、本発明に用いる植物の発現ベクターはさらにT-DNA領域を有
20 し得る。T-DNA領域は、特にアグロバクテリウムを用いてその植物を形質転換する場合に遺伝子の導入の効率を高める。

本明細書において「組換えベクター」とは、目的のポリヌクレオチド配列を目的の細胞へと移入させることができるベクターをいう。そのようなベクターとしては、原核細胞、酵母、動物細胞、植物細胞、昆虫細胞、動物個体および
25 植物個体等の宿主細胞において自立複製が可能、または染色体中への組込みが可能で、本発明のポリヌクレオチドの転写に適した位置にプロモーターを含有

しているものが例示される。

原核細胞に対する「組換えベクター」としては、pBTrp2、pBTac1、pBTac2 (いずれもRoche Molecular Biochemicalsより市販)、pKK233-2 (Pharmacia)、pSE2
5 80 (Invitrogen)、pGEMEX-1 (Promega)、pQE-8 (QIAGEN)、pKYP10 (特開昭58-110600)、pKYP200 (Agric. Biol. Chem., 48, 669 (1984))、pLSA1 (Agric. Biol. Chem., 53, 277 (1989))、pGEL1 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 4306 (1
10 985))、pBluescript II SK+ (Stratagene)、pBluescript II SK (-) (Stratagene)、pTrs30 (FERM BP-5407)、pTrs32 (FERM BP-5408)、pGHA2 (FERM BP-400)、pGKA2 (FERM B-6798)、pTerm2 (特開平3-22979、US4686191、US4
15 939094、US5160735)、pEG400 [J. Bacteriol., 172, 2392 (1990)]、pGEX (Pharmacia)、pETシステム (Novagen)、pSupex、pUB110、pTP5、pC194、pTrxFus (Invitrogen)、pMAL-c2 (New England Biolabs)、pUC19 [Gene, 33, 103 (1985)]、
20 pSTV28 (宝酒造)、pUC118 (宝酒造)、pPA1 (特開昭63-233798) などが例示される。

本明細書において「プロモーター」とは、遺伝子の転写の開始部位を決定し、またその頻度を直接的に調節するDNA上の領域をいい、RNAポリメラーゼが結合して転写を始める塩基配列である。プロモーターの領域は、通常、推定
25 タンパク質コード領域の第1エキソンの上流約2kbp以内の領域であることが多いので、DNA解析用ソフトウェアを用いてゲノム塩基配列中のタンパ

ク質コード領域を予測すれば、プロモーター領域を推定することはできる。推定プロモーター領域は、構造遺伝子ごとに変動するが、通常構造遺伝子上流にあるが、これらに限定されず、構造遺伝子下流にもあり得る。好ましくは、推定プロモーター領域は、第一エキソン翻訳開始点から上流約2 k b p以内に存在するがそれに限定されず、例えば、イントロン、3'末端より下流などにも存在し得る。

本明細書において「ターミネーター」は、遺伝子のタンパク質をコードする領域の下流に位置し、DNAがmRNAに転写される際の転写の終結、ポリA配列の付加に関与する配列である。

10 本発明を利用する場合、ベクターの導入方法としては、細胞に核酸分子を導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、トランスフェクション、形質導入、形質転換（塩化カルシウム法、エレクトロポレーション法（特開昭60-251887）、パーティクルガン（遺伝子銃）法（特許第2606856、特許第2517813）等）が例示される。

15 本明細書において「形質転換体」とは、形質転換によって作製された細胞などの生命体の全部または一部をいう。形質転換体としては、原核細胞、酵母、動物細胞、植物細胞、昆虫細胞等が例示される。形質転換体は、その対象に依存して、形質転換細胞、形質転換組織、形質転換宿主などともいわれ、本明細書においてそれらの形態をすべて包含するが、特定の文脈において特定の形態を指し得る。

20 本明細書において「相同的組換え」とは、1対の二本鎖DNAの相同的な塩基配列を有する部分に起こる組換えをいう。生体内では染色体乗換えなどの形で見られる。

25 本明細書において「相同的組換えが生じる条件」とは、ゲノムを有するある生物、およびそのゲノムの配列の任意の少なくとも1つの領域と相同な配列を有する核酸分子が存在する場合に、相同的組換えが生じる条件をいう。そのよ

うな条件は、生物によってことなるが、当業者には周知である。そのような条件としては、たとえば、

Tk-pyrF欠損株No. 25、No. 27をASW-YT液体培地20mlで培養

↓

- 5 1 サンプルにつき培養液3mlより集菌 (No. 25、No. 27各5サンプル)

↓

0.8×ASW+80mM CaCl₂ 200 μlに懸濁し、氷上で30min静置

↓

pUC118/DS、pUC118/DDを3 μg混合し、氷上で1h静置

- 10 (同一サンプルを2つずつ。ControlにはTE bufferを等量加えた)

↓

85°C、45sでheat shock

↓

氷上で10min静置

- 15 ↓

Ura⁻ASW-AA液体培地で前培養 (持ち込みのウラシルにより増殖)

↓

Ura⁻ASW-AA液体培地で培養 (PyrF⁺株を濃縮)

↓

- 20 Ura⁻ASW-AA固体培地で培養

という条件が挙げられるがそれらに限定されない。ここで、上記ASW (人工海水) の組成は以下のとおりである: 1×人工海水 (Artificial sea water (ASW)) (/L): NaCl 20g; MgCl₂·6H₂O 3g; MgSO₄·7H₂O 6g; (NH₄)₂SO₄ 1g; NaHCO₃ 0.2g; CaCl₂·2H₂O 0.3g; KCl 0.5g; NaBr 0.05g; SrCl₂·6H₂O 0.02g; およびFe (NH₄) クエン酸 0.01g。

- 25

相同的組換えは、ゲノムとベクターとの間の少なくとも1つの領域が相同で

あれば生じ得るが、好ましくは、ゲノムとベクターとの間の相同な領域は2つあることが好ましい。

本明細書において「クロスオーバー」または「交差」とは、染色体について私用されるとき、対合している一对の相同染色体が途中からつなぎ変わり、新たな核酸配列の組合わせを生じることという。

本明細書において「シングルクロスオーバー」とは、染色体について私用されるとき、クロスオーバーを起こす核酸分子同士の上に1箇所相同な領域を有し、その箇所でのみクロスオーバーが起き、結果として一方の核酸配列が他方に組み込まれることをいう。

10 本明細書において「ダブルクロスオーバー」とは、染色体について私用されるとき、クロスオーバーを起こす核酸分子同士の上に2箇所相同な領域を有し、その相同な領域の間の核酸配列が他方に入れ替わることをいう。

本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現」とは、その遺伝子などがインビボで一定の作用を受けて、別の形態になることをいう。好ましくは、遺伝子、ポリヌクレオチドなどが、転写および翻訳されて、ポリペプチドの形態になることをいうが、転写されてmRNAが作製されることもまた発現の一態様であり得る。より好ましくは、そのようなポリペプチドの形態は、翻訳後プロセッシングを受けたものであり得る。

20 本明細書において遺伝子の「発現産物」とは、遺伝子の発現の結果生じる物質をいい、転写産物であるmRNAなど、翻訳産物であるポリペプチドおよびその翻訳後修飾物であるポリペプチドなどが挙げられる。そのような発現産物の検出は、直接的または間接的であり得、そのような検出は当該分野において周知の技術（たとえば、サザンブロット、ノーザンブロットなど）によって行われ得る。そのような技術は本明細書において他の場所においても説明されており、他の場所において引用された文献にも記載されている。

25 本明細書においてポリペプチドを製造する方法としては、例えば、そのポリ

ペプチドを産生する初代培養細胞または株化細胞を培養し、培養上清などから単離または精製することによりそのポリペプチドを得る方法が挙げられる。あるいは、遺伝子操作手法を利用して、そのポリペプチドをコードする遺伝子を適切な発現ベクターに組み込み、これを用いて発現宿主を形質転換し、この形質転換細胞の培養上清または細胞抽出物から組換えポリペプチドを得ることができる。上記宿主細胞は、生理活性を保持するポリペプチドを発現するものであれば、特に限定されず、従来から遺伝子操作において利用される各種の宿主細胞（例えば、大腸菌、酵母、動物細胞など）を用いることが可能である。組換え宿主細胞を培養する条件は、使用される宿主細胞の種類に依存して適切に選択される。宿主細胞としては、組換えDNA技術において使用可能な任意の宿主細胞が使用され得る。これらは例えば、細菌細胞、酵母細胞、動物細胞、植物細胞および昆虫細胞などを包含する。好ましい宿主細胞は細菌細胞である。このようにして得られた細胞に由来するポリペプチドは、天然型のポリペプチドと実質的に同一の作用を有する限り、アミノ酸配列中の1以上のアミノ酸が置換、付加および／または欠失していてもよく、糖鎖が置換、付加および／または欠失していてもよい。発現産物が細胞外に分泌される場合は、例えば培養物を遠心分離またはろ過することによって上清を得、これを直接精製するかあるいは沈澱法または限外ろ過などにより濃縮してから精製する。発現産物が細胞中に蓄積される場合は、細胞を、細胞壁溶解酵素、浸透圧の変化、ガラスビーズ、ホモジナイザーまたは超音波処理などを用いて破壊して細胞抽出物を得、これを精製する。精製は、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過、アフィニティークロマトグラフィー、電気泳動などの当該分野で公知の方法を組み合わせ実施され得る。

あるアミノ酸は、相互作用結合能力の明らかな低下または消失なしに、例えば、カチオン性領域または基質分子の結合部位のようなタンパク質構造において他のアミノ酸に置換され得る。あるタンパク質の生物学的機能を規定するの

は、タンパク質の相互作用能力および性質である。従って、特定のアミノ酸の置換がアミノ酸配列において、またはそのDNAコード配列のレベルにおいて行われ得、置換後もなお、もとの性質を維持するタンパク質が生じ得る。従って、生物学的有用性の明らかな損失なしに、種々の改変が、本明細書において

5 開示されたペプチドまたはこのペプチドをコードする対応するDNAにおいて行われ得る。

上記のような改変を設計する際に、アミノ酸の疎水性指数が考慮され得る。タンパク質における相互作用的な生物学的機能を与える際の疎水性アミノ酸指数の重要性は、一般に当該分野で認められている (K y t e, J および D o o

10 l i t t l e, R. F. J. M o l. B i o l. 1 5 7 (1): 1 0 5 - 1 3 2, 1 9 8 2)。アミノ酸の疎水的性質は、生成したタンパク質の二次構造に寄与し、次いでそのタンパク質と他の分子（例えば、酵素、基質、レセプター、DNA、抗体、抗原など）との相互作用を規定する。各アミノ酸は、それらの疎水性および電荷の性質に基づく疎水性指数を割り当てられる。それらは：イソロイシ

15 ン (+4. 5)；バリン (+4. 2)；ロイシン (+3. 8)；フェニルアラニン (+2. 8)；システイン／シスチン (+2. 5)；メチオニン (+1. 9)；アラニン (+1. 8)；グリシン (-0. 4)；スレオニン (-0. 7)；セリン (-0. 8)；トリプトファン (-0. 9)；チロシン (-1. 3)；プロリン (-1. 6)；ヒスチジン (-3. 2)；グルタミン酸 (-3. 5)；グルタミン (-3. 5)；アスパラギン酸 (-3. 5)；アスパラギン (-3. 5)；リジン (-3. 9)；およびアルギニン (-4. 5)) である。

20

あるアミノ酸を、同様の疎水性指数を有する他のアミノ酸により置換して、そして依然として同様の生物学的機能を有するタンパク質（例えば、酵素活性において等価なタンパク質）を生じさせ得ることが当該分野で周知である。こ

25 のようなアミノ酸置換において、疎水性指数が±2以内であることが好ましく、±1以内であることがより好ましく、および±0. 5以内であることがさらに

より好ましい。疎水性に基づくこのようなアミノ酸の置換は効率的であることが当該分野において理解される。

アミノ酸の置換において親水性指数もまた、考慮され得る。米国特許第4、554、101号に記載されるように、以下の親水性指数がアミノ酸残基に割り当てられている：アルギニン（+3.0）；リジン（+3.0）；アスパラギン酸（+3.0±1）；グルタミン酸（+3.0±1）；セリン（+0.3）；アスパラギン（+0.2）；グルタミン（+0.2）；グリシン（0）；スレオニン（-0.4）；プロリン（-0.5±1）；アラニン（-0.5）；ヒスチジン（-0.5）；システイン（-1.0）；メチオニン（-1.3）；バリン（-1.5）；ロイシン（-1.8）；イソロイシン（-1.8）；チロシン（-2.3）；フェニルアラニン（-2.5）；およびトリプトファン（-3.4）。アミノ酸が同様の親水性指数を有しかつ依然として生物学的等価体を与え得る別のものに置換され得ることが理解される。このようなアミノ酸置換において、親水性指数が±2以内であることが好ましく、±1以内であることがより好ましく、および±0.5以内であることがさらにより好ましい。

本発明において「保存的置換」とは、アミノ酸置換において、元のアミノ酸と置換されるアミノ酸との親水性指数または／および疎水性指数が上記のように類似している置換をいう。保存的置換の例は、当業者に周知であり、例えば、次の各グループ内での置換：アルギニンおよびリジン；グルタミン酸およびアスパラギン酸；セリンおよびスレオニン；グルタミンおよびアスパラギン；ならびにバリン、ロイシン、およびイソロイシン、などが挙げられるがこれらに限定されない。

本発明において「サイレント置換」とは、ヌクレオチド配列置換において、そのヌクレオチドがコードするアミノ酸には変化が生じない置換をいう。このようなサイレント置換は、遺伝コードの縮重を利用して行うことができる。そのような縮重については、当該分野で周知であり、本明細書において引用され

る文献などにも記載されている。

本明細書において「改変体」とは、もとのポリペプチドまたはポリヌクレオチドなどの物質に対して、一部が変更されているものをいう。そのような改変体としては、置換改変体、付加改変体、欠失改変体、短縮 (truncated) 改変体、対立遺伝子変異体などが挙げられる。対立遺伝子 (allele) とは、同一遺伝子座に属し、互いに区別される遺伝的改変体のことをいう。従って「対立遺伝子変異体」とは、ある遺伝子に対して、対立遺伝子の関係にある改変体をいう。「種相同体またはホモログ (homolog)」とは、ある種の中で、ある遺伝子とアミノ酸レベルまたはヌクレオチドレベルで、相同性 (好ましくは、60%以上の相同性、より好ましくは、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上の相同性) を有するものをいう。そのような種相同体を取得する方法は、本明細書の記載から明らかである。「オルソログ (ortholog)」とは、オルソログ遺伝子 (orthologous gene) ともいい、二つの遺伝子がある共通祖先からの種分化に由来する遺伝子をいう。

例えば、多重遺伝子構造をもつヘモグロビン遺伝子ファミリーを例にとると、ヒトとマウスの α ヘモグロビン遺伝子はオルソログであるが、ヒトの α ヘモグロビン遺伝子と β ヘモグロビン遺伝子はパラログ (遺伝子重複で生じた遺伝子) である。オルソログは、分子系統樹の推定に有用であることから、本発明のオルソログもまた、本発明において有用であり得る。

「保存的 (に改変された) 改変体」は、アミノ酸配列および核酸配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された改変体とは、同一のまたは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸をいい、核酸がアミノ酸配列をコードしない場合には、本質的に同一な配列をいう。遺伝コードの縮重のため、多数の機能的に同一な核酸が任意の所定のタンパク質をコードする。例えば、コドンGCA、GCC、GCG、およびGCUはすべて、アミノ酸アラニンをコードする。したがって、アラニンがコドンにより特定される全

ての位置で、そのコドンは、コードされたポリペプチドを変更することなく、記載された対応するコドンの任意のものに変更され得る。このような核酸の変動は、保存的に改変された変異の1つの種である「サイレント改変（変異）」である。ポリペプチドをコードする本明細書中のすべての核酸配列はまた、その

5 核酸の可能なすべてのサイレント変異を記載する。当該分野において、核酸中の各コドン（通常メチオニンのための唯一のコドンであるAUG、および通常トリプトファンのための唯一のコドンであるTGGを除く）が、機能的に同一な分子を産生するために改変され得ることが理解される。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載された各配列において暗

10 黙に含まれる。好ましくは、そのような改変は、ポリペプチドの高次構造に多大な影響を与えるアミノ酸であるシステインの置換を回避するようになされ得る。このような保存的改変、サイレント改変もまた、本発明の範囲内にある。

本明細書において使用される核酸は、周知のPCR法により得ることができ、化学的に合成することもできる。これらの方法に、例えば、部位特異的変位誘

15 発法、ハイブリダイゼーション法などを組み合わせてもよい。

本明細書において、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの「置換、付加または欠失」とは、もとのポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対して、それぞれアミノ酸もしくはその代替物、またはヌクレオチドもしくはその代替物が、置き換わること、付け加わることまたは取り除かれることをいう。このような

20 置換、付加または欠失の技術は、当該分野において周知であり、そのような技術の例としては、部位特異的変異誘発技術などが挙げられる。置換、付加または欠失は、1つ以上であれば任意の数でよく、そのような数は、その置換、付加または欠失を有する改変体において目的とする機能（例えば、癌マーカー、神経疾患マーカーなど）が保持される限り、多くすることができる。例えば、

25 そのような数は、1または数個であり得、そして好ましくは、全体の長さの20%以内、10%以内、または100個以下、50個以下、25個以下などで

あり得る。

本明細書において、遺伝子が「特異的に発現する」とは、その遺伝子が、植物の特定の部位または時期において他の部位または時期とは異なる（好ましくは高い）レベルで発現されることをいう。特異的に発現するとは、ある部位（特
5 異的部位）にのみ発現してもよく、それ以外の部位においても発現していてもよい。好ましくは特異的に発現するとは、ある部位においてのみ発現すること
をいう。

本発明において利用され得る一般的な分子生物学的手法としては、Ausubel F. A. ら編（1988）、Current Protocols in Molecular Biology、Wiley、New York、NY；Sambrook J ら（1987）Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NYなどを参酌して当業者であれば
10 容易に実施をすることができる。

本明細書において「耐熱性」とは、通常の生物が生存する環境温度より高い温度に対して抵抗性を有することをいい、たとえば、37℃を超える温度に対する抵抗性が挙げられる。より通常には、耐熱性は、50℃以上の温度に対する抵抗性をいう。耐熱性は、生物について使用されるときは、低温でも高温でも生育することができる性質をいうことがある。他方、耐熱性は、ポリペプチドについて使用されるときは、高温（たとえば、37℃を超える温度、50℃
20 以上の温度）に対する抵抗性をいう。また、このうちで、90℃以上でも抵抗性を有するものの性質を「超耐熱性」ともいう。

本明細書において、高温で生育することができる生物はまた「好熱菌」と呼ぶことがある。好熱菌は、通常生育至適温度が50～105℃で、30℃以下ではほとんど増殖しない。また、このうちで、90℃以上の至適温度をもつも
25

のは「超好熱菌」と呼ばれる。

本明細書において使用される「超好熱始原菌」および「超耐熱菌」は、交換可能に使用され、90℃以上で生育する微生物であるをいう。好ましくは超好熱始原菌は、超耐熱DNAリガーゼを産生する、本発明者らが単離した耐熱性

5 チオールプロテアーゼ産生菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1株 (Morikawa, M. et al., Appl. Environ. Microbiol. 60 (12), 4559-4566 (1994)) である。KOD-1株は独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センター (〒305-8566 茨城県つくば市東1-1-1 中央第6) に寄託されており、その受託番号はFERM P-15007号である。なお、このKOD-1株は、上記文献に記載されているように、分離された当初 *Pyrococcus* 属に分類されていた。しかし、DNASIS (日立ソフトウェアエンジニアリング社製) に入力されているGenBank R91.0 October, 1995+Daily Updateの登録データを用いた1

10 6S rRNAの配列の比較を実施したところ、KOD-1株は *Pyrococcus* 属よりはむしろ *Thermococcus* 属に近縁であることが示され、現在では *Thermococcus kodakaraensis* KOD-1と分類されている。

本明細書において、超耐熱性タンパク質を生産する超好熱始原菌の培養は、

20 例えば Appl. Environ. Microbiol. 60 (12), 4559-4566 (1994) (前出) に記載の培養条件下で実施し得る。培養は、静置培養または窒素ガスによる通気攪拌培養のいずれかであり得、そして連続的または回分的のいずれかであり得る。

超好熱始原菌の染色体DNAは、培養された細菌細胞を、界面活性剤 (例えば、N-ラウリルサルコシン) などを用いて溶解し、得られた溶解物を塩化セシウムエチジウムブロミド平衡密度勾配超遠心分離法などにより分画して得る

25

ことができる（例えば、Imanaka et al., J. Bacteriol. 147: 776-786 (1981) を参照のこと）。ライブラリーは、得られた染色体DNAを各種制限酵素で切断した後、同一の制限酵素または共通の切断末端を与える制限酵素で切断したベクター（ファージまたはプラスミドなどのような）にT4 DNAリガーゼなどを用いて連結することにより得ることができる。

ライブラリーのスクリーニングは、このライブラリーから目的の超耐熱性DNAリガーゼをコードするDNAを含むクローンを選択することにより行い得る。選択は、例えば、予め決定された超耐熱性DNAリガーゼの部分アミノ酸配列に基づいて設計されたオリゴヌクレオチド、目的のDNAと相同性を有すると推測されるクローン化DNAなどをプローブとして用いて実施され得る。あるいは、選択は、目的の酵素を発現させることにより実施され得る。例えば、発現の検出は、目的の酵素の活性が容易に検出され得る場合は、プレートに加えられた基質に対する発現産物の活性を検出することにより、または目的の酵素に対する抗体が利用可能である場合は、発現産物と抗体との反応性を利用して実施され得る。

得られたクローン化DNAの解析は、例えば選択されたDNAを単離し、この制限地図を作製すること、およびヌクレオチド配列を決定することなどにより実施され得る。クローン化DNAの調製、制限酵素処理、サブクローニング、ヌクレオチド配列の決定などの技術は当該分野において周知であり、例えば「Molecular Cloning: A Laboratory Manual 第2版」(Sambrook, FritschおよびManiatis編, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) に記載されている。

次いで、得られたクローン化DNAを、使用される宿主細胞に適合性の発現ベクター中に作動可能に挿入し、この発現ベクターで宿主細胞を形質転換し、

形質転換された宿主細胞を培養することにより、超耐熱性タンパク質を発現させ得る。

(生体分子チップ)

5 本発明のゲノム情報を持ちいて生体分子チップ（例えば、DNAチップ、プロテインチップ、糖タンパク質チップ、抗体チップなど）を提供することができる。

10 本発明の遺伝子などの発現調節の解析は、DNAアレイを用いた遺伝子解析方法によっても行われ得る。本発明はまた、本発明において初めて同定されたゲノム配列を用いた、擬似ゲノムDNAアレイ（超耐熱菌ゲノムアレイともいう）を提供する。

15 DNAアレイについては、(秀潤社編、細胞工学別冊「DNAマイクロアレイと最新PCR法」)に広く概説されている。また、DNAアレイを用いた植物の解析についても最近行われるようになってきている(Schenk PMら(2000) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 97:11655-11660)。以下、DNAアレイおよびそれを使用する遺伝子分析方法を簡単に説明する。

20 「DNAアレイ」とは、DNAを基板上にアレイ整列(array)させて、固定させたデバイスをいう。DNAアレイは、基盤の大きさまたは載せるDNAの密度によって、DNAマクロアレイおよびDNAマイクロアレイなどに分けられるが、本明細書では厳密に区別して使用するものではない。

25 マクロとマイクロとの境界は厳密に決まっているわけではないが、一般に「DNAマクロアレイ」とは、メンブレン上にDNAをスポットした高密度フィルター(high density filter)をいい「DNAマイクロアレイ」とは、ガラス、シリコンなどの基板表面にDNAを載せたものをいう。載せる種類によって、cDNAアレイ、オリゴDNAアレイなどがある。

高密度オリゴDNAアレイのうち、半導体集積回路製造のための光リソグラ

フィー (photolithography) 技術を応用し、基板上で一度に複数種のオリゴDNAを合成することで作製されたものを、半導体チップになぞらえて、特に「DNAチップ (chip)」という。この方法を用いて作製されたものとしては、GeneChip (登録商標) (Affimetrix、C
5 A) などが挙げられる (Marshall Aら、(1998) Nat. Biotechnol. 16:27-31およびRamsay Gら、(1998) Nat. Biotechnol. 16:40-44を参照のこと)。好ましくは、本発明におけるマイクロアレイを用いた遺伝子解析においては、このGeneChip (登録商標) が用いられ得る。DNAチップは、狭義には上記のよう
10 に定義されるが、DNAアレイまたはDNAマイクロアレイ全体をいうこともある。

DNAマイクロアレイは、このように、ガラス基板上に数千～数万またはそれを超える遺伝子DNAを高密度に配列したデバイスであることから、cDNA、cRNAまたはゲノムDNAとのハイブリダイゼーションによって、遺伝
15 子発現のプロファイルまたは遺伝子多型をゲノムスケールで解析することが可能となっている。この手法により、シグナル伝達系および／または転写制御経路の解析 (Fambrough Dら (1999), Cell 97, 727-741)、組織修復の機構の解析 (Iyer VRら、(1999), Science 283:83-87)、医薬品の作用機構 (Marton MJ、(19
20 99), Nat. Med. 4:1293-1301)、発生・分化の過程における遺伝子発現変動の広汎な解析、病態に伴って発現変動する遺伝子群の同定、またはシグナル伝達系もしくは転写制御に関与する新たな遺伝子の発見などが可能となってきた。また、遺伝子多型についても、多数のSNPを1つのDNAマイクロアレイで解析することが可能となっている (Cargill Mら、
25 (1999), Nat. Genet. 22:231-238)。

DNAマイクロアレイを用いたアッセイの原理を説明する。DNAマイクロ

アレイは、表面を適切に加工したスライドガラスのような固相基板上に多数の異なるDNAプローブを高密度に固定して作製する。その後、標識した核酸（標的）を、適切なハイブリダイゼーション条件下で、ハイブリダイズさせ、各々のプローブからのシグナルを自動検出器で検出する。このデータをコンピュータで大量解析する。例えば、遺伝子モニタリングにおいては、オリゴDNAまたはcDNAをプローブとしたマイクロアレイに、mRNAから逆転写反応により蛍光標識を取り込ませた標的cDNAをハイブリダイズさせて、蛍光イメージアナライザで検出する。この際、T7ポリメラーゼを用いてcRNA合成反応を行ったり、酵素反応を介させたりと、他の種々のシグナル増幅反応も行い得る。

Fodorらは、コンビナトリアルケミストリと半導体製造用光リソグラフィ技術とを合わせて、基板上にポリマーを合成する技術を開発した（Fodor SPら、(1991) Science 251:767-773）。これを、合成型DNAチップという。光リソグラフィでは、極めて微細な表面加工が可能なので、 $10\mu\text{m}^2$ /DNAサンプルといった集積度の高いDNAマイクロアレイを作製し得る。この方法では、一般に、ガラス基板上に25~30程度のDNAが合成され得る。

合成型DNAチップを用いた遺伝子発現は、Lockartらが報告している（Lockart DJら (1996) Nat. Biotechnol.: 14:1675-1680）。この方法では、合成され得る長さが短いため特異性が低いという本タイプのチップの欠点が解消された。ここでは、1つの遺伝子発現をみるために、十数か所に対応するパーフェクトマッチ（perfect match; PM）オリゴヌクレオチドプローブと、PMプローブの中央の1塩基に変異を入れたミスマッチ（mismatch; MM）オリゴヌクレオチドプローブとを調製することで、この問題が解決された。MMプローブは、ここでは、ハイブリダイゼーションの特異性の指標として用いられ、そしてP

MプローブとMMプローブとのシグナル比から、遺伝子発現レベルが決定され得る。PMプローブとMMプローブとのシグナル比が同等な場合は、クロスハイブリダイゼーションと呼び、有意なシグナルとは解釈されない。

5 いわゆる貼り付け型DNAマイクロアレイにおいては、スライドガラスにDNAを貼り付けていくタイプのDNAマイクロアレイを作製し、蛍光検出する
(<http://cmgm.stanford.edu/pbrown> もまた参照のこと)。この方法では、大掛かりな半導体製造機は必要ではなく、DNAアレイ機および検出器があれば、研究室内でアッセイすることが可能である。この方法は、貼り付けるDNAを選択することが可能であるという利点を有する。高密度化についても、
10 例えば、直径100 μm のスポットを100 μm 間隔でスポットすれば、計算上1 cm^2 に2500のDNAをスポットすることが可能である。したがって、通常スライドガラス（有効面積は、およそ4 cm^2 ）におよそ1万個のDNAを載せ得る。

15 合成型DNAアレイにおける標識方法としては、例えば、二蛍光標識法が挙げられる。この方法では、2つの異なるmRNAサンプルをそれぞれ異なる蛍光で標識し、同一マイクロアレイ上で競合的ハイブリダイゼーションを行って、療法の蛍光を測定し、それを比較することで遺伝子発現の相違を検出する。蛍光色素としては、例えば、Cy 5およびCy 3などが最も用いられているが、それらに限定されない。Cy 3およびCy 5の利点は、蛍光波長の重なりが殆ど
20 ないという点である。二蛍光標識法は、遺伝子発現の相違のみならず、変異または多型性を検出するためにも使用され得る。

DNAアレイを用いるアッセイにおいては、アレイ機が使用され得る。アレイ機は、基本的に、高性能サーボモーターと組み合わせて、コンピュータの制御下でピン先またはスライドホルダをXYZ軸方向に作動し、マイクロタイ
25 タープレートからスライドガラス表面上にDNAサンプルを運ぶ装置である。ピン先の形状には、種々の加工がなされている。例えば、鳥口のように割れたペ

ン先にDNA溶液を溜めて、複数のスライドガラスにスポットする方式である。洗淨・乾燥のサイクルを挟んで、次にDNAサンプルを載せるという工程を繰り返す。ここで、サンプル同士の混入を防ぐためにも、ピン先の洗淨・乾燥を完全に行うことに注意する。このようなアレイ機としては、SPBIO200
5 0（日立ソフトウェアエンジニアリング；1回打ち型）、GMS417Arrayer（宝酒造；ピンリング型）、Gene Tip Stamping（日本レーザ電子；万年筆型）などが挙げられる。

DNAアレイを用いたアッセイに使用されるDNA固定法には種々の方法が存在する。基板の材質として、ガラスは、メンブレンと比較して有効固定面積
10 が小さく、荷電量も少ないことから、種々のコーティングがなされている。実用的には、ポリ-L-リシンコートまたはシリル化などが行われている（Schenkel Mら（1995）Science 270：467-470）、Schenkel Mら（1996）Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 93：10614-10619を参照のこと）。また、市販のDNAマイクロアレイ専用コーティング済スライドガラス（例えば、ポリカルボジイミドガラス（日清紡）など）も使用され得る。オリゴDNAの場合は、DNA末端を
15 アミノ化してシラン化ガラスに架橋する方法も利用可能である。

DNAマイクロアレイには、主に、PCRで増幅されたcDNA断片が載せられ得る。cDNAの濃度が充分ではない場合、シグナルを十分に検出し得ない
20 い場合が存在する。このように、一度のPCRにおいて充分量のcDNA断片が得られなかった場合には、PCRを何度か繰り返し、得られたPCR産物をまとめて精製・濃縮し得る。プローブcDNAは、一般的には、cDNAをランダムに数多く載せるが、実験の目的によっては、選択された一群の遺伝子（例えば、本発明の遺伝子群またはプロモーター群）またはRDA（representational differential analysis）で得
25 られた発現変化候補遺伝子を載せ得る。クローンの重複は避けることが好まし

い。クローンは、手持ちのcDNAライブラリーから調製してもよく、cDNAクローンをまとめて入手してもよい。

DNAアレイを用いたアッセイにおいては、DNAマイクロアレイ上でハイブリダイズした蛍光シグナルを蛍光検出器等で検出する。このような検出器は、
5 現在までに種々の検出器が利用可能である。例えば、スタンフォード大学のグループは、オリジナルスキャナを開発しており、このスキャナは、蛍光顕微鏡と稼動ステージとを組み合わせたものである (<http://cmgm.stanford.edu/pbrown>を参照のこと)。従来型のゲル用蛍光イメージアナライザであるFMBIO (日立ソフトウェアエンジニアリング)、Storm (Molecular Dynamics) などでも、スポットがそれほど
10 高密度でなければ、DNAマイクロアレイの読み取りを行い得る。その他に利用可能な検出器としては、ScanArray 4000、同5000 (General Scanning; スキャン型 (共焦点型))、GMS 418 Array Scanner (宝酒造; スキャン型 (共焦点型))、Gene Tip Scanner (日本レーザ電子; スキャン型 (非共焦点型))、Gene Tac 2000 (Genomic Solutions; CCDカメラ型)) などが挙げられる。

DNAマイクロアレイから得られるデータは膨大であることから、クローンとスポットとの対応の管理、データ解析などを行うためのデータ解析ソフトウェアが重要である。そのようなソフトウェアとしては、各種検出システムに付属のソフトウェアが利用可能である (Ermolaeva Oら (1998) Nat. Genet. 20:19-23)。また、データベースのフォーマットとしては、例えば、Affymetrixが提唱しているGATC (genetic analysis technology consortium)
20 と呼ばれる形式が挙げられる。

本明細書においてタンパク質の発現の調節はまた、ディファレンシャルディ

スプレイ (d i f f e r e n t i a l d i s p l a y) 技術を用いた遺伝子解析でも解析することができる。

本明細書において「ディファレンシャルディスプレイ (技術)」とは、発現変動する遺伝子を検出または同定するための方法である。この方法では、2つ以上のサンプルから c D N A をそれぞれ作製し、任意のプライマーセットを用いて P C R により増幅し、その後、生成された複数の P C R 産物をゲル電気泳動により分離し、パターン化した後、各バンドの相対的なシグナル強度変化をもとに、発現変動遺伝子がクローニングされる。

本明細書において使用される「支持体」は、生体分子のような物質を固定することができる材料 (m a t e r i a l) をいう。支持体の材料としては、共有結合かまたは非共有結合のいずれかで、本発明において使用される生体分子のような物質に結合する特性を有するかまたはそのような特性を有するように誘導体化され得る、任意の固体材料が挙げられる。

支持体として使用するためのそのような材料としては、固体表面を形成し得る任意の材料が使用され得るが、例えば、ガラス、シリカ、シリコン、セラミック、二酸化珪素、プラスチック、金属 (合金も含まれる)、天然および合成のポリマー (例えば、ポリスチレン、セルロース、キトサン、デキストラン、およびナイロン) などが挙げられるがそれらに限定されない。支持体は、複数の異なる材料の層から形成されていてもよい。例えば、ガラス、石英ガラス、アルミナ、サファイア、フォスファイト、酸化珪素、炭化珪素、窒化珪素などの無機絶縁材料を使用することができる。ポリエチレン、エチレン、ポリプロピレン、ポリイソブチレン、ポリエチレンテレフタレート、不飽和ポリエステル、含フッ素樹脂、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリビニルアセタール、アクリル樹脂、ポリアクリロニトリル、ポリスチレン、アセタール樹脂、ポリカーボネート、ポリアミド、フェノール樹脂、ユリア樹脂、エポキシ樹脂、メラミン樹脂、スチレン・アク

リロニトリル共重合体、アクリロニトリルブタジエンスチレン共重合体、シリ
コーン樹脂、ポリフェニレンオキサイド、ポリスルホンなどの有機材料を用い
ることができる。本発明においてはまた、ニトロセルロース膜、ナイロン膜、
PVDF膜など、ブロッティングに使用される膜を用いることもできる。支持
5 体を構成する材料が固相である場合、本明細書において特に「固相支持体」と
いう。本明細書において、プレート、マイクロウェルプレート、チップ、スラ
イドガラス、フィルム、ビーズ、金属（表面）などの形態をとり得る。支持体
はコーティングされていてもよく、コーティングされていなくてもよい。

本明細書において「チップ」とは、多様の機能をもち、システムの一部とな
10 る超小型集積回路をいう。本明細書において、「生体分子チップ」とは、基板と、
生体分子とを含み、その基板には本明細書において定義された生体分子が少な
くとも1つ配置されている。

本明細書において使用される用語「アドレス」とは、基板上のユニークな位
置をいい、他のユニークな位置から弁別可能であり得るものをいう。アドレス
15 は、そのアドレスを伴う生体分子との関連づけに適切であり、そしてすべての
各々のアドレスにおける存在物が他のアドレスにおける存在物から識別され得
る（例えば、光学的）、任意の形状を採り得る。アドレスの形は、例えば、円状、
楕円状、正方形、長方形であり得るか、または不規則な形であり得る。

各々のアドレスのサイズは、とりわけ、その基板の大きさ、特定の基板上の
20 アドレスの数、分析物の量および／または利用可能な試薬、生体分子のサイズ
およびそのアレイが使用される任意の方法のために必要な解像度の程度に依存
する。大きさは、例えば、1－2 nmから数 cm（たとえば、1－2 mm～数
cmなど、125×80 mm、10×10 mmなど）の範囲であり得るが、そ
のアレイの適用に一致した任意の大きさが可能である。そのような場合、基板
25 材料は、アレイの特定の製造プロセスおよび適用のために適切な大きさおよび
形状へと形成される。例えば、測定対象物が多く入手可能な場合の分析におい

て、比較的大きな基板（例えば、 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ またはそれより大きい）の上のアレイを構築することがより経済的であり得る。ここでは、あまり感受性ではなく、それゆえより経済的な検出システムが使用され得るさらなる利点に伴う。他方、分析物および／または試薬が利用可能である量が限定されている場合、これらの成分の消費を最小限化するようにアレイが設計され得る。

アドレスの空間配置および形状は、そのマイクロアレイが使用される特定の適用に適合するように設計される。アドレスは、密に充填され得、広汎に分散され得るか、または特定の型の分析物に適切な所望のパターンへとサブグループ化され得る。本明細書において用いられるように、「アレイ」とは、固相表面または膜上の固定物体の固定されたパターンまたはそのようなパターンを有する分子集団を意味する。典型的に、アレイはそれ自身固相表面または膜に固定されている核酸配列を捕獲するように結合した生体分子（例えば、DNA、RNA、タンパク質-RNA融合分子、タンパク質、有機低分子など）で構成される。アレイ上には、生体分子の「スポット」が配置され得る。本明細書において「スポット」とは、生体分子の一定の集合をいう。

基板には、任意の数のアドレスが配置され得るが、通常、 10^8 アドレスまで、他の実施形態において 10^7 アドレスまで、 10^6 アドレスまで、 10^5 アドレスまで、 10^4 アドレスまで、 10^3 アドレスまで、または 10^2 アドレスまでのアドレスが配置され得る。したがって、1アドレスに生体分子1個が配置されているときは、基板には、 10^8 個の生体分子まで、他の実施形態において 10^7 個の生体分子まで、 10^6 個の生体分子まで、 10^5 個の生体分子まで、 10^4 個の生体分子まで、 10^3 個の生体分子まで、または 10^2 個の生体分子までの個の生体分子が配置され得る。これらの場合において、より小さな基板の大きさおよびより小さなアドレスが適切である。特に、アドレスの大きさは、単一の生体分子のサイズと同じ小さくあり得る（これは、 $1-2\text{ nm}$ の桁であり得る）。最小限の基板の面積は、いくつかの場合において基板上のアドレスの数に

よって決定される。

本明細書において使用される用語「生体分子」とは、生体に関連する分子をいう。本明細書において「生体」とは、生物学的な有機体をいい、動物、植物、菌類、ウイルスなどを含むがそれらに限定されない。生体分子は、生体から抽出される分子を包含するが、それに限定されず、生体に影響を与え得る分子であれば生体分子の定義に入る。したがって、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（たとえば、低分子リガンドなど）もまた生体への効果が意図され得るかぎり、生体分子の定義に入る。そのような生体分子には、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、核酸（例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、mRNAのようなRNAを含む）、ポリサッカリド、オリゴサッカリド、脂質、低分子（例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子など）、これらの複合分子などが包含されるがそれらに限定されない。生体分子にはまた、本発明の基板に結合され得る限り、細胞自体、組織の一部または全部なども包含され得る。好ましくは、生体分子は、核酸またはタンパク質を含む。別の好ましい実施形態では、生体分子は、核酸（例えば、ゲノムDNAまたはcDNA、あるいはPCRなどによって合成されたDNA）である。他の好ましい実施形態では、生体分子はタンパク質であり得る。好ましくは、本発明の基板上には、1アドレスあたり1種類の生体分子が提供され得る。別の実施形態では、二種類以上の生体分子を含むサンプルが1アドレスに提供されていてもよい。

本明細書において「液相」とは、当該分野において通常用いられる意味と同じ意味で用いられ、通常、溶液中での状態をいう。

本明細書において「固相」とは、当該分野において用いられる意味と同じ意味で用いられ、通常、固体の状態をいう。本明細書において液体および固体を総合して流体ということがある。

本明細書において「接触」とは、2つの物質（例えば、組成物および細胞）が互いに相互作用するに十分に至近距離に存在することをいう。

5 本明細書において「相互作用」とは、2つの物体について言及するとき、その2つの物体が相互に力を及ぼしあうことをいう。そのような相互作用としては、例えば、共有結合、水素結合、ファンデルワールス力、イオン性相互作用、非イオン性相互作用、疎水性相互作用、静電的相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。好ましくは、相互作用は、水素結合、疎水性相互作用などの生体内で生じる通常の相互作用であり得る。

10 1つの実施形態において、本発明では、生体分子（たとえば、有機低分子、コンビナトリアルケミストリー生成物）のライブラリーを、基板に結合させ得、これを用いて分子をスクリーニングするためのマイクロアレイを生成することができる。本発明で使用する化合物ライブラリは、例えば、コンビナトリアルケミストリー技術、醗酵方法、植物および細胞抽出手順などが挙げられるがこれらに限定されない、いずれかの手段により、作製することができるかまたは
15 入手することができる。コンビナトリアルライブラリを作成する方法は、当該技術分野で周知である。例えば、E. R. Felder, *Chimia* 1994, 48, 512-541; Gallop ら、*J. Med. Chem.* 1994, 37, 1233-1251; R. A. Houghten, *Trends Genet.* 1993, 9, 235-239; Houghten ら、*Nature* 1991, 354, 84-86; Lam ら、*Nature* 1991, 354, 82-84; Carell ら、*Chem. Biol.* 1995, 3, 171-183; Madden ら、*Perspectives in*
20 *Drug Discovery and Design* 2, 269-282; Cwirla ら、*Biochemistry* 1990, 87, 6378-6382; Brenner ら、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992, 89, 5381-5383; Gordon ら、*J. Med. Chem.* 1994, 37, 1385-1401; Lebl ら、*Biopolymers* 1995, 37 177-198; およびそれらで引用された参考文献を参照のこと。これらの参考文献は、その全体を、本明細書中で参考として援用する。

25 本発明の方法、生体分子チップおよび装置は、例えば、診断、法医学、薬物探索（医薬品のスクリーニング）および開発、分子生物学的分析（例えば、ア

レイベースのヌクレオチド配列分析およびアレイベースの遺伝子配列分析)、タンパク質特性および機能の分析、薬理ゲノム学、プロテオミクス、環境調査ならびにさらなる生物学および化学的な分析において使用され得る。

5 本発明はさらに、RFLP、SNP（スニップ。一塩基多型）解析等の多型解析、塩基配列の解析等にも適応することが可能である。本発明はまた、医薬品のスクリーニングにおいて使用することができる。

本発明はまた、医療以外にも、食品検査、検疫、医薬品検査、法医学、農業、畜産、漁業、林業などで、生体分子の検査が必要なものに全て適応可能である。

10 本発明はまた、生体から直接採取したサンプル以外に、PCR、SDA、NASBA法等で増幅した遺伝子の検出に対しても用いることは可能である。本発明はさらに、標的遺伝子は予め電気化学的に活性な物質や、FITC、ローダミン、アクリジン、Texas Red、フルオレセインなどの蛍光物質、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼなどの酵素、ハプテン、発光物質、抗体、抗原、金コロイドなどのコロイド粒子、金属、金属イオン、およびトリスビピリジン、トリスフェナントロリン、ヘキサ
15 アミンなどとの金属キレートなどで標識しておくことも可能である。

1つの実施形態において、核酸を用いた検査のためには、これら検体試料から核酸成分の抽出を行う。抽出方法は特に限定される物ではなく、フェノールクロロホルム法等の液-液抽出法や担体を用いる固液抽出法を用いることができる。
20 また、市販の核酸抽出方法QIAamp（QIAGEN社、ドイツ）などを利用することも可能である。次に、抽出した核酸成分を含むサンプルと本発明の生体分子チップとの間でハイブリダイゼーション反応を行う。反応溶液は、イオン強度0.01～5の範囲で、pH5～10の範囲の緩衝液中で行う。この溶液中にはハイブリダイゼーション促進剤である硫酸デキストランや、
25 サケ精子DNA、ウシ胸腺DNA、EDTA、界面活性剤などを添加し得る。これに抽出した核酸成分を添加し、90℃以上で熱変性させる。生体分子チッ

プの挿入は、変性直後、あるいは0℃に急冷後に行うことができる。また、基板上に液を滴下することでハイブリダイゼーション反応を行うことも可能である。反応中は、攪拌、あるいは震盪などの操作で反応速度を高めることもできる。反応温度は10℃～90℃の範囲であり、また反応時間は1分以上から1
5 晩程度行う。ハイブリダイゼーション反応後、電極を取り出し洗浄を行う。洗浄には、イオン強度0.01～5の範囲で、pH5～10の範囲の緩衝液を用いることができる。

本明細書において「標識」は、目的となる分子または物質を他から識別するための存在（たとえば、物質、エネルギー、電磁波など）をいう。そのような
10 標識方法としては、RI（ラジオアイソトープ）法、蛍光法、ビオチン法、化学発光法等を挙げることができる。上記の核酸断片および相補性を示すオリゴヌクレオチドを何れも蛍光法によって標識する場合には、蛍光発光極大波長が互いに異なる蛍光物質によって標識を行う。蛍光発光極大波長の差は、10nm以上であることが好ましい。蛍光物質としては、核酸の塩基部分と結合できる
15 ものであれば何れも用いることができるが、シアニン色素（例えば、Cy Dye™ シリーズのCy3、Cy5等）、ローダミン6G試薬、N-アセトキシ-N2-アセチルアミノフルオレン（AAF）、AAIF（AAFのヨウ素誘導体）等を使用することが好ましい。蛍光発光極大波長の差が10nm以上である蛍光物質としては、例えば、Cy5とローダミン6G試薬との組み合わせ、Cy
20 3とフルオレセインとの組み合わせ、ローダミン6G試薬とフルオレセインとの組み合わせ等を挙げることができる。

本明細書において、「チップ属性データ」とは、本発明の生体分子チップに関する何らかの情報に関連するデータをいう。チップ属性データには、チップID、基板データ、生体分子属性データのような生体分子チップに関連する情報
25 が含まれる。本明細書において「チップID」とは、個々のチップを識別する符号をいう。本明細書において、「基板データ」または「基板属性データ」とは、

同じ意味で用いられ、本発明の生体分子チップにおいて利用される基板に関するデータを言う。基板データは、たとえば、生体分子の配置またはパターンに関する情報を含み得る。「生体分子属性データ」とは、生体分子に関する情報をいい、たとえば、その生体分子の遺伝子配列（核酸である場合はヌクレオチド配列、タンパク質である場合はアミノ酸配列）、遺伝子配列に関連する情報（たとえば、特定疾患または状態との関連）、低分子である場合には、ホルモンである場合にはその働き、コンビナトリアルライブラリーである場合にはそのライブラリー情報、低分子に親和性のある分子情報などが挙げられる。本明細書で使用する「測定データ」とは、本発明の生体分子基板、装置およびシステムにより測定された生のデータおよびそこから導き出される特定の処理データをいう。そのようなデータは、生の場合、電気信号の強さで表され得、処理されたデータの場合は、遺伝子機能、遺伝子発現量のような具体的な生化学データであり得る。

本明細書において「記録領域」とは、データが記録され得る領域をいう。記録領域には、上記チップ属性データのほか、測定したデータも記録することができる。

本明細書において使用される技術は、そうではないと具体的に指示しない限り、当該分野の技術範囲内にある、マイクロフルイディクス、微細加工、有機化学、生化学、遺伝子工学、分子生物学、微生物学、遺伝学および関連する分野における周知慣用技術を使用する。そのような技術は、例えば、以下に列挙した文献および本明細書において他の場所において引用した文献においても十分に説明されている。

微細加工については、例えば、Campbell, S. A. (1996). The Science and Engineering of Microelectronic Fabrication, Oxford University Press; Zaut, P. V. (1996). Micromicroarray Fabrication: a Practical Guide to Semiconductor Processing, Semiconductor Services; Madou, M. J. (1997).

Fundamentals of Microfabrication, CRC1 5 Press; Rai-Choudhury, P. (1997).
Handbook of Microlithography, Micromachining, & Microfabrication:
Microlithography などに記載されており、これらは本明細書において関連する
部分が参考として援用される。

- 5 フトリソグラフィ技術は、Fordor et al. によって開発された技術であり、
光反応性保護基を利用する (Science, 251, 767 (1991) を参照のこと)。この保
護基は、各塩基モノマーと同種、あるいは別種の塩基モノマーとの結合を阻害
する働きがあり、この保護基が結合している塩基末端には、新たな塩基の結合
10 反応は生じない。また、この保護基は、光照射によって容易に除去することが
できる。まず、基板全面にこの保護基を有するアミノ基を固定化させておく。
次に、所望の塩基を結合させたいスポットにのみ、通常の半導体プロセスで使
用されるフトリソグラフィ技術と同様の方法を使って、選択的に光照射を
行う。これにより、光が照射された部分の塩基のみ、後続の結合によって次の
塩基を導入できる。ここに、同じ保護基を末端に有する所望の塩基を結合させ
15 る。そして、フォトマスクの形状を変更して、別のスポットに選択的に光照射
を行う。このあと、同様にして、保護基を有する塩基を結合させる。この工程
をスポット毎に所望の塩基配列が得られるまで繰返すことによって DNA アレイ
が作製される。本明細書において、フトリソグラフィ技術が使用され得る。

- 20 インクジェット方式 (技術) は、熱、圧電効果を利用し非常に小さい液滴を 2
次元平面の所定の位置に射出する技術であり、主にプリンター装置において広
く用いられている。DNA アレイの製造には、圧電素子をガラスキャピラリーと組
み合わせた構造のインクジェット装置が使用される。液体チャンバーに接続さ
れた圧電素子に電圧を加えることにより、圧電素子の体積の変化によってチャ
ンバー内の液体が、チャンバーに接続された、キャピラリーから液滴となって
25 射出される。射出される液滴の大きさは、キャピラリーの径、圧電素子の体積
変化量、液体の物理的性質によって決定されるが、一般には、直径が 30 μm 程

度である。圧電素子を用いたインクジェット装置は、このような液滴を 10KHz 程度の周期で射出することができる。このようなインクジェット装置を使った DNA アレイ製造装置は、インクジェット装置と DNA アレイ基板とを相対運動させることにより、DNA アレイ上の所望のスポットに所望の液滴を滴下することができる。インクジェット装置を使った DNA アレイ製造装置には、大きくわけて 2 種類ある。1 つはただ 1 台のインクジェット装置を用いた DNA アレイ製造装置であり、もう 1 つはマルチヘッドのインクジェット装置を用いた装置である。ただ 1 台のインクジェット装置を用いた DNA アレイ製造装置は、オリゴマー末端の保護基を除去する試薬を所望のスポットに滴下する構成になっている。所望の塩基を導入したいスポットの保護基を、このインクジェット装置を用いて除去して活性な状態にした後、DNA アレイ全体に所望の塩基の結合反応操作を実施する。この際、インクジェット装置からの試薬の滴下によって、末端が活性化したオリゴマーを持つスポットのみに所望の塩基が結合する。この後、新たに付加した塩基の末端を保護する操作を行う。次に、保護基を除去するスポットを変更してこの操作を所望のヌクレオチド配列が得られるまで繰返す。一方、マルチヘッドのインクジェット装置を用いた DNA アレイ製造装置は、各塩基を含む試薬毎にインクジェット装置を用意することによって、各スポット毎に所望の塩基を直接結合させることができる構成になっており、前述した 1 台のインクジェット装置を用いた DNA アレイ製造装置よりも高いスループットが得られる。あらかじめ合成したオリゴヌクレオチドを基板に固定化させる方法のうち、メカニカルマイクロスポッティング技術は、ステンレス製のピンの先端についたオリゴヌクレオチドを含む液体を機械的に基板上に押し付けて固定化していく技術である。この方法で得られるスポットは、50～300 μm 程度になる。マイクロスポッティング後には、UV 光による固定化等の後処理が行われる。

(好ましい実施形態の説明)

以下に本発明の最良の形態を説明する。以下に提供される実施形態は、本発

明のよりよい理解のために提供されるものであり、本発明の範囲は以下の記載に限定されるべきでないことが理解される。従って、当業者は、本明細書中の記載を参酌して、本発明の範囲内で適宜改変を行うことができることは明らかである。

- 5 次に、本発明の特徴の一つでもある新規遺伝子ターゲティング破壊について説明する。

1つの局面において、本発明は、生物のゲノムにおける任意の遺伝子をターゲティング破壊するための方法を提供する。この方法は、1) 上記生物のゲノムの全配列の情報を提供する工程；2) 上記配列の任意の少なくとも1つの領域を選択する工程；3) 上記選択された領域と相同な配列、およびマーカ遺伝子を含むベクターを提供する工程；4) 上記ベクターで上記生物を形質転換する工程；および5) 上記生物を相同的組換えが生じる条件下に配置する工程、を包含する。この方法は、ゲノム配列全体が解明されたことによりはじめて達成されるものであり、従来の技術、たとえば、Bartolucci S. の
10 Sulfolobus solfataricusを用いたモデルシステムでは、狙った遺伝子の破壊はできず、偶然により破壊された結果を利用することしかできない点で異なり、この相違点により、本発明は、所望の遺伝子を効率よく迅速に破壊することができ、機能解析などを行うことができるという効果がもたらされた。

- 20 好ましくは、本発明の上記工程2)において、上記領域は少なくとも2つ選択される。領域が2つあることにより、ダブルクロスオーバーによる遺伝子のターゲティング破壊が行われるからである。本発明により示されるように、ダブルクロスオーバーによる遺伝子のターゲティング破壊は、シングルクロスオーバーによる遺伝子のターゲティング破壊よりも一般的に効率がよい。従って、
25 上記領域は2つあることが好ましくあり得る。

本発明において使用されるベクターは、破壊ベクターとも呼ばれるが、プロ

モーターのようなさらなる遺伝子調節エレメントをさらに含んでもよい。

本発明の遺伝子ターゲティング方法は、上記マーカー遺伝子の発現産物を検出する工程をさらに包含し得る。ここで、この発現産物は、例えば、mRNA、ポリペプチド、翻訳後修飾を受けたポリペプチドであり得る。

- 5 1つの実施形態において、上記マーカー遺伝子は、上記選択された領域内に配置されても、上記選択された領域の外に配置されていてもよい。

本明細書において、本発明において使用されるゲノムは、そのゲノムの全配列がほぼ判明していればどのようなゲノムであってもよい。そのようなゲノムの例としては、例えば、*Aeropyrum pernix*、*Archaeo*
10 *globus fulgidus*、*Methanobacterium thermoautorrophicum*、*Methanococcus jannaschii*、*Pyrococcus abyssi*、*Pyrococcus furiosus*、*Pyrococcus horikoshii*、*Sulfolobus solfataricus*、*Sulfolobus to*
15 *kodaii*、*Thermoplasma acidophilum*、*Thermoplasma volcanium*のような古細菌、*Aquifex aeolicus*、*Thermotoga maritima*などの細菌などが挙げられるがそれらに限定されない。1つの実施形態では、ゲノムは、*Thermococcus kodakaraensis* KOD1のゲノムであ
20 ってもよい。なぜなら、*Thermococcus kodakaraensis* KOD1のゲノムは、いまや全配列が判明したからである。ここで、全配列が判明またはほぼ判明したとは、どの領域の配列を選択したとしても、相同組換えを生じさせるに十分な相同な配列の領域を提供することができる程度に配列が判明していることをいう。したがって、そのような状態は、全配列が
25 1塩基も欠けずに、判明していることが好ましいが、1、2、3塩基わからない状態の部分があってもよい。そのようなわからない状態の部分は、相同組換

えを生じさせるに十分な相同な配列の領域を提供することができる程度であれば、複数存在していてもよい。

好ましくは、本発明のゲノムは、配列番号 1 に示される配列を有する。

5 好ましくは、本発明の方法において、選択される領域は上記領域は、配列番号 1 中のオープンリーディングフレームであり、これは、配列番号 1、3 4 2、7 2 3、1 0 8 7、1 4 6 9 または 1 8 3 8 に示される配列において、以下の表：

【表 1】

遺伝子 番号	核酸番号 (センス鎖 (配列番号 1、342、7 23に対 応)、開始)	核酸番号(セ ンス鎖、配列 番号1、34 2、723に対 応、終結)	核酸番号(アン チセンス鎖、配 列番号1087、 1469、1838 に対応、終結)	核酸番号(アン チセンス鎖、配 列番号1087、 1469、1838 に対応、開始)	配列番号 対応
1	1	5016	2089377	2084362	2
2	5134	5733	2084244	2083645	3
3	6079	6543	2083299	2082835	1468
4	6586	7014	2082792	2082364	4
5	7152	7391	2082226	2081987	1837
6	7399	7614	2081979	2081764	1467
7	7655	8755	2081723	2080623	2157
8	8843	10093	2080535	2079285	343
9	10095	10379	2079283	2078999	724
10	10376	10807	2079002	2078571	344
11	10808	11416	2078570	2077962	2156
12	11406	11726	2077972	2077652	725
13	11723	12286	2077655	2077092	345
14	12338	13411	2077040	2075967	346
15	13392	13841	2075986	2075537	1836
16	13808	14056	2075570	2075322	2155
17	14153	14896	2075225	2074482	347
18	15239	15964	2074139	2073414	348
19	16151	16699	2073227	2072679	349
20	16696	17697	2072682	2071681	5
21	17780	18793	2071598	2070585	2154

22	18786	19280	2070592	2070098	1835
23	19290	20183	2070088	2069195	1834
24	20183	21187	2069195	2068191	2153
25	21266	21919	2068112	2067459	2152
26	21913	22569	2067465	2066809	1466
27	22597	24195	2066781	2065183	1465
28	23947	24834	2065431	2064544	6
29	24813	25451	2064565	2063927	726
30	25413	25811	2063965	2063567	1833
31	25813	27396	2063565	2061982	1464
32	27565	28620	2061813	2060758	7
33	28591	29334	2060787	2060044	1463
34	29782	30681	2059596	2058697	8
35	31102	31266	2058276	2058112	9
36	31414	32235	2057964	2057143	10
37	32367	33251	2057011	2056127	727
38	33291	35033	2056087	2054345	728
39	35048	35824	2054330	2053554	350
40	35882	36541	2053496	2052837	351
41	36553	37380	2052825	2051998	11
42	37394	37870	2051984	2051508	352
43	37874	39298	2051504	2050080	353
44	39760	40332	2049618	2049046	12
45	40360	41070	2049018	2048308	13
46	41072	42694	2048306	2046684	354
47	42696	44444	2046682	2044934	729
48	44441	46435	2044937	2042943	355
49	46470	46991	2042908	2042387	730

50	47171	47416	2042207	2041962	356
51	47317	47799	2042061	2041579	14
52	47937	49139	2041441	2040239	1832
53	49153	49329	2040225	2040049	1462
54	49393	49731	2039985	2039647	15
55	49728	50297	2039650	2039081	731
56	50278	50559	2039100	2038819	1461
57	50693	51412	2038685	2037966	357
58	51483	52061	2037895	2037317	1831
59	52063	52605	2037315	2036773	1460
60	52602	53792	2036776	2035586	1830
61	54169	55020	2035209	2034358	16
62	55058	55606	2034320	2033772	358
63	55746	56018	2033632	2033360	732
64	56132	56263	2033246	2033115	359
65	56244	56708	2033134	2032670	733
66	56674	57267	2032704	2032111	17
67	57264	57584	2032114	2031794	1829
68	57599	58276	2031779	2031102	2151
69	58855	59703	2030523	2029675	18
70	59704	59868	2029674	2029510	1459
71	59898	61799	2029480	2027579	1828
72	62830	63723	2026548	2025655	19
73	64226	65992	2025152	2023386	360
74	66045	67382	2023333	2021996	734
75	67399	68973	2021979	2020405	20
76	69117	69374	2020261	2020004	735
77	69583	69795	2019795	2019583	21
78	69792	70511	2019586	2018867	736
79	70504	71112	2018874	2018266	22

80	71117	71245	2018261	2018133	361
81	71679	72593	2017699	2016785	737
82	72764	73339	2016614	2016039	362
83	73336	74643	2016042	2014735	23
84	74603	75760	2014775	2013618	363
85	75753	76025	2013625	2013353	738
86	76022	77458	2013356	2011920	364
87	77735	79045	2011643	2010333	365
88	79622	79726	2009756	2009652	2150
89	79968	80129	2009410	2009249	739
90	80246	80428	2009132	2008950	366
91	80432	83176	2008946	2006202	367
92	83431	83628	2005947	2005750	24
93	83908	84267	2005470	2005111	25
94	84264	84440	2005114	2004938	740
95	84461	85018	2004917	2004360	368
96	84999	85340	2004379	2004038	741
97	85421	85948	2003957	2003430	369
98	86333	87139	2003045	2002239	2149
99	87211	87663	2002167	2001715	26
100	87663	88265	2001715	2001113	742
101	88266	89279	2001112	2000099	743
102	89307	90059	2000071	1999319	744
103	90079	90267	1999299	1999111	27
104	90276	90560	1999102	1998818	745

105	90583	91056	1998795	1998322	1458
106	91178	91366	1998200	1998012	370
107	91363	92979	1998015	1996399	28
108	93072	94550	1996306	1994828	746
109	94552	95712	1994826	1993666	29
110	96185	97636	1993193	1991742	371
111	97620	98147	1991758	1991231	747
112	98417	99583	1990961	1989795	372
113	99648	100892	1989730	1988486	748
114	100915	101205	1988463	1988173	1457
115	101224	101733	1988154	1987645	1456
116	101796	102347	1987582	1987031	749
117	102393	102563	1986985	1986815	750
118	102986	103432	1986392	1985946	2148
119	103476	104318	1985902	1985060	751
120	104398	106101	1984980	1983277	30
121	106210	106779	1983168	1982599	31
122	106834	107454	1982544	1981924	32
123	107637	108455	1981741	1980923	752
124	108482	109099	1980896	1980279	2147
125	109092	111035	1980286	1978343	1827
126	111643	113019	1977735	1976359	1455
127	113205	114563	1976173	1974815	753

128	114668	115351	1974710	1974027	373
129	115397	116401	1973981	1972977	374
130	116482	116634	1972896	1972744	1454
131	116676	117494	1972702	1971884	1826
132	117475	118242	1971903	1971136	1453
133	118178	118711	1971200	1970667	2146
134	119061	119939	1970317	1969439	1825
135	119973	120485	1969405	1968893	754
136	120479	120952	1968899	1968426	2145
137	121121	121192	1968257	1968186	2144
138	121404	121856	1967974	1967522	755
139	122007	122438	1967371	1966940	756
140	122431	122667	1966947	1966711	33
141	122668	123594	1966710	1965784	34
142	123578	123868	1965800	1965510	2143
143	123932	126157	1965446	1963221	2142
144	126306	128561	1963072	1960817	757
145	128631	130013	1960747	1959365	1824
146	130150	131154	1959228	1958224	1452
147	131148	133049	1958230	1956329	1823
148	132745	133890	1956633	1955488	35
149	133885	134547	1955493	1954831	1451
150	134544	134834	1954834	1954544	1822
151	134978	135754	1954400	1953624	2141
152	137477	138172	1951901	1951206	2140
153	138521	138676	1950857	1950702	2139
154	139365	140972	1950013	1948406	758

155	141078	141311	1948300	1948067	759
156	141335	141856	1948043	1947522	375
157	141853	142707	1947525	1946671	1450
158	142732	143793	1946646	1945585	1449
159	143756	144931	1945622	1944447	2138
160	144924	145235	1944454	1944143	1821
161	145334	145951	1944044	1943427	376
162	146007	146603	1943371	1942775	1820
163	147207	149273	1942171	1940105	1819
164	149293	149697	1940085	1939681	1448
165	149699	150874	1939679	1938504	2137
166	150876	151928	1938502	1937450	1818
167	152076	152471	1937302	1936907	760
168	152417	152743	1936961	1936635	377
169	152801	153490	1936577	1935888	2136
170	153487	154752	1935891	1934626	1447
171	154844	155881	1934534	1933497	2135
172	156044	157309	1933334	1932069	378
173	157368	158228	1932010	1931150	761
174	158158	159018	1931220	1930360	1446
175	158982	159464	1930396	1929914	762
176	159517	160083	1929861	1929295	1445
177	160206	160256	1929172	1929122	763
178	160526	160744	1928852	1928634	2134
179	160787	161719	1928591	1927659	2133
180	161795	163255	1927583	1926123	2132
181	163362	164405	1926016	1924973	764

182	164398	165393	1924980	1923985	1444
183	165390	167531	1923988	1921847	1817
184	168881	170377	1920497	1919001	2131
185	170457	171128	1918921	1918250	1816
186	171130	171381	1918248	1917997	1443
187	171383	172534	1917995	1916844	2130
188	172527	173834	1916851	1915544	1815
189	173896	173985	1915482	1915393	1442
190	174404	174601	1914974	1914777	379
191	174585	175349	1914793	1914029	765
192	175740	177038	1913638	1912340	1814
193	177138	178151	1912240	1911227	766
194	178184	178348	1911194	1911030	380
195	178320	179039	1911058	1910339	1813
196	179195	180553	1910183	1908825	381
197	180543	181031	1908835	1908347	1812
198	181028	181288	1908350	1908090	2129
199	181345	183324	1908033	1906054	1441
200	183436	184935	1905942	1904443	1440
201	185362	185955	1904016	1903423	1439
202	185988	187004	1903390	1902374	1811
203	187111	187953	1902267	1901425	1438

204	188074	189315	1901304	1900063	36
205	189865	190278	1899513	1899100	37
206	190253	190621	1899125	1898757	382
207	190630	191799	1898748	1897579	1437
208	191874	192509	1897504	1896869	767
209	192535	192981	1896843	1896397	38
210	192971	193486	1896407	1895892	383
211	193701	194033	1895677	1895345	1810
212	194152	194358	1895226	1895020	1436
213	195097	195405	1894281	1893973	39
214	195742	195846	1893636	1893532	1435
215	195995	196111	1893383	1893267	384
216	196138	196959	1893240	1892419	1434
217	197032	197625	1892346	1891753	1433
218	197747	198367	1891631	1891011	385
219	198495	199754	1890883	1889624	1809
220	199748	200686	1889630	1888692	2128
221	200742	201098	1888636	1888280	768
222	201067	201738	1888311	1887640	40
223	201692	202102	1887686	1887276	386
224	202103	202924	1887275	1886454	387
225	202929	203372	1886449	1886006	769
226	203585	204475	1885793	1884903	388
227	204472	205083	1884906	1884295	41
228	205070	206200	1884308	1883178	389

229	206280	206813	1883098	1882565	770
230	206810	207397	1882568	1881981	390
231	207399	208100	1881979	1881278	771
232	208082	208840	1881296	1880538	391
233	208850	209479	1880528	1879899	392
234	209476	210486	1879902	1878892	42
235	210470	211198	1878908	1878180	393
236	211296	211982	1878082	1877396	772
237	211979	212956	1877399	1876422	394
238	212938	214239	1876440	1875139	43
239	214236	214814	1875142	1874564	773
240	214807	215433	1874571	1873945	44
241	215426	216595	1873952	1872783	395
242	216588	217343	1872790	1872035	774
243	217325	218095	1872053	1871283	2127
244	218020	219114	1871358	1870264	1432
245	219077	219253	1870301	1870125	2126
246	219407	220474	1869971	1868904	2125
247	220471	221718	1868907	1867660	1431
248	221676	222236	1867702	1867142	1808
249	222472	222852	1866906	1866526	1430
250	222879	223259	1866499	1866119	1807
251	223282	223923	1866096	1865455	1429
252	223877	225022	1865501	1864356	2124
253	224890	225804	1864488	1863574	1428

254	225801	226844	1863577	1862534	1806
255	226718	227377	1862660	1862001	2123
256	227370	227741	1862008	1861637	1805
257	227931	228242	1861447	1861136	775
258	228257	228718	1861121	1860660	396
259	228710	229147	1860668	1860231	2122
260	229347	229745	1860031	1859633	1804
261	229732	230820	1859646	1858558	1427
262	230826	231581	1858552	1857797	1803
263	231591	232583	1857787	1856795	1802
264	232580	233410	1856798	1855968	2121
265	233428	233589	1855950	1855789	1426
266	233684	234727	1855694	1854651	2120
267	234715	235206	1854663	1854172	1425
268	235203	236345	1854175	1853033	1801
269	236342	237427	1853036	1851951	2119
270	237653	238216	1851725	1851162	2118
271	238509	239528	1850869	1849850	776
272	239489	239686	1849889	1849692	397
273	239677	240426	1849701	1848952	1424
274	240560	243028	1848818	1846350	398
275	243977	244525	1845401	1844853	399
276	244591	245055	1844787	1844323	45
277	245052	245747	1844326	1843631	777

278	245738	246229	1843640	1843149	2117
279	246239	246340	1843139	1843038	2116
280	247226	248134	1842152	1841244	2115
281	248197	249606	1841181	1839772	1423
282	251161	251265	1838217	1838113	46
283	251394	251477	1837984	1837901	778
284	251557	251760	1837821	1837618	47
285	254653	255162	1834725	1834216	1422
286	255227	256987	1834151	1832391	2114
287	257124	258452	1832254	1830926	1800
288	258556	259233	1830822	1830145	1421
289	260703	261923	1828675	1827455	779
290	262176	262484	1827202	1826894	1799
291	262544	263830	1826834	1825548	2113
292	264065	265165	1825313	1824213	2112
293	264895	266262	1824483	1823116	1420
294	266696	266977	1822682	1822401	2111
295	267002	268075	1822376	1821303	2110
296	268109	269197	1821269	1820181	2109
297	269297	270064	1820081	1819314	400
298	270052	270306	1819326	1819072	48
299	270301	271278	1819077	1818100	1419
300	271361	272119	1818017	1817259	401
301	272121	272429	1817257	1816949	780
302	272525	274057	1816853	1815321	2108
303	274244	274963	1815134	1814415	402
304	275340	275564	1814038	1813814	781
305	276688	277758	1812690	1811620	49

306	277759	278526	1811619	1810852	50
307	278454	278981	1810924	1810397	782
308	278969	279736	1810409	1809642	403
309	279859	280521	1809519	1808857	1418
310	280629	281072	1808749	1808306	783
311	281104	282072	1808274	1807306	51
312	282069	282467	1807309	1806911	784
313	282544	283272	1806834	1806106	1417
314	283421	284416	1805957	1804962	2107
315	284413	285099	1804965	1804279	1416
316	285104	285292	1804274	1804086	2106
317	285716	286492	1803662	1802886	2105
318	286543	287079	1802835	1802299	52
319	287046	287645	1802332	1801733	1798
320	287758	288153	1801620	1801225	1415
321	288150	288437	1801228	1800941	1797
322	288505	289047	1800873	1800331	1414
323	289173	289493	1800205	1799885	1796
324	289490	289948	1799888	1799430	2104
325	290136	291029	1799242	1798349	1795
326	290939	291157	1798439	1798221	2103
327	291353	292696	1798025	1796682	404
328	292703	293509	1796675	1795869	405
329	293510	293593	1795868	1795785	2102

330	293627	294415	1795751	1794963	406
331	294346	294663	1795032	1794715	53
332	294750	295001	1794628	1794377	785
333	295115	296626	1794263	1792752	407
334	296627	297139	1792751	1792239	2101
335	297204	297731	1792174	1791647	1794
336	297773	298702	1791605	1790676	408
337	298699	300825	1790679	1788553	54
338	300795	301748	1788583	1787630	786
339	301803	303251	1787575	1786127	1793
340	303305	303766	1786073	1785612	2100
341	303750	304688	1785628	1784690	1792
342	304698	305126	1784680	1784252	1791
343	305339	306193	1784039	1783185	409
344	306190	306858	1783188	1782520	55
345	307473	307700	1781905	1781678	787
346	308311	308886	1781067	1780492	1413
347	308930	309406	1780448	1779972	2099
348	309492	310637	1779886	1778741	1790
349	310642	311016	1778736	1778362	1412
350	311017	311625	1778361	1777753	1411
351	312108	312536	1777270	1776842	1789
352	312637	312903	1776741	1776475	56
353	312953	313306	1776425	1776072	410
354	313344	314120	1776034	1775258	788
355	314205	314447	1775173	1774931	789
356	314429	315589	1774949	1773789	411
357	315618	316058	1773760	1773320	1788
358	316245	316973	1773133	1772405	1787

359	317124	318272	1772254	1771106	790
360	318265	319239	1771113	1770139	1410
361	319807	319851	1769571	1769527	1409
362	320239	320928	1769139	1768450	57
363	321374	321511	1768004	1767867	412
364	321508	321696	1767870	1767682	58
365	322012	322365	1767366	1767013	59
366	322265	324256	1767113	1765122	413
367	324261	326399	1765117	1762979	791
368	326552	326935	1762826	1762443	414
369	327013	327282	1762365	1762096	60
370	327284	327514	1762094	1761864	415
371	327518	328321	1761860	1761057	416
372	328333	328815	1761045	1760563	61
373	328812	329288	1760566	1760090	792
374	329290	330090	1760088	1759288	62
375	330224	331687	1759154	1757691	417
376	331691	332452	1757687	1756926	418
377	332449	332736	1756929	1756642	63
378	334175	334945	1755203	1754433	419
379	335068	335664	1754310	1753714	64
380	337045	337260	1752333	1752118	65
381	337711	338295	1751667	1751083	1408
382	339363	339788	1750015	1749590	793
383	340641	340727	1748737	1748651	794
384	341558	341995	1747820	1747383	420
385	342397	343461	1746981	1745917	66

386	343454	343891	1745924	1745487	421
387	343888	344076	1745490	1745302	67
388	344090	344401	1745288	1744977	422
389	345281	345472	1744097	1743906	423
390	345566	345622	1743812	1743756	2098
391	345615	345740	1743763	1743638	795
392	346174	346356	1743204	1743022	68
393	346528	346881	1742850	1742497	69
394	346606	346668	1742772	1742710	1407
395	347138	348463	1742240	1740915	424
396	348567	350417	1740811	1738961	1786
397	350537	351598	1738841	1737780	425
398	351592	352155	1737786	1737223	70
399	352419	352985	1736959	1736393	796
400	353923	354102	1735455	1735276	71
401	354174	355334	1735204	1734044	797
402	355393	355872	1733985	1733506	72
403	355856	356452	1733522	1732926	2097
404	356449	357381	1732929	1731997	1406
405	357378	358037	1732000	1731341	1785
406	358034	359329	1731344	1730049	2096
407	359407	360171	1729971	1729207	73
408	360168	361466	1729210	1727912	798
409	361497	363407	1727881	1725971	799
410	366699	367151	1722679	1722227	1784
411	367290	368240	1722088	1721138	1783
412	368237	369289	1721141	1720089	2095
413	370634	371449	1718744	1717929	426

414	371481	372920	1717897	1716458	800
415	374488	374550	1714890	1714828	74
416	374583	374840	1714795	1714538	801
417	374833	375534	1714545	1713844	1405
418	375535	376308	1713843	1713070	1404
419	376000	376092	1713378	1713286	75
420	376298	376771	1713080	1712607	2094
421	379177	380310	1710201	1709068	1403
422	380366	381109	1709012	1708269	2093
423	381111	382313	1708267	1707065	1782
424	382310	382675	1707068	1706703	2092
425	382850	383839	1706528	1705539	2091
426	384244	384471	1705134	1704907	1402
427	384528	385040	1704850	1704338	1781
428	385030	386139	1704348	1703239	1401
429	389056	390132	1700322	1699246	1400
430	390129	391328	1699249	1698050	1780
431	391570	392187	1697808	1697191	1399
432	392614	393321	1696764	1696057	1398
433	393449	394750	1695929	1694628	427
434	394894	398109	1694484	1691269	76
435	398178	398471	1691200	1690907	1779
436	398502	399011	1690876	1690367	802
437	399050	404185	1690328	1685193	428
438	404484	405290	1684894	1684088	803
439	405419	405631	1683959	1683747	2090
440	405628	405963	1683750	1683415	1397
441	405960	406709	1683418	1682669	1778
442	406835	408055	1682543	1681323	429

443	408052	408807	1681326	1680571	77
444	408809	409462	1680569	1679916	430
445	409459	409647	1679919	1679731	78
446	409647	410459	1679731	1678919	804
447	410460	411080	1678918	1678298	805
448	411176	411688	1678202	1677690	431
449	411878	413293	1677500	1676085	432
450	413415	413915	1675963	1675463	806
451	413926	414252	1675452	1675126	79
452	414877	415209	1674501	1674169	80
453	417109	417270	1672269	1672108	81
454	417291	417929	1672087	1671449	807
455	418636	419175	1670742	1670203	82
456	419247	420563	1670131	1668815	808
457	420627	422132	1668751	1667246	809
458	422333	422719	1667045	1666659	433
459	422876	424030	1666502	1665348	2089
460	426547	426711	1662831	1662667	83
461	426747	427742	1662631	1661636	810
462	427799	429064	1661579	1660314	434
463	429065	430390	1660313	1658988	2088
464	430394	430633	1658984	1658745	2087
465	430618	430785	1658760	1658593	1396
466	430883	432259	1658495	1657119	2086
467	432397	432738	1656981	1656640	84
468	432751	433449	1656627	1655929	85
469	433446	434621	1655932	1654757	1777

470	434530	435735	1654848	1653643	86
471	435779	436300	1653599	1653078	2085
472	436300	436812	1653078	1652566	1395
473	437409	438209	1651969	1651169	811
474	438222	439658	1651156	1649720	1776
475	439696	440403	1649682	1648975	1394
476	440578	441444	1648800	1647934	87
477	441511	441882	1647867	1647496	88
478	441887	442267	1647491	1647111	435
479	442358	442873	1647020	1646505	436
480	442922	444142	1646456	1645236	437
481	444220	444681	1645158	1644697	89
482	444972	445310	1644406	1644068	812
483	446197	448899	1643181	1640479	1393
484	448945	450294	1640433	1639084	1392
485	450481	450996	1638897	1638382	90
486	451077	451238	1638301	1638140	813
487	451250	451597	1638128	1637781	438
488	452770	453123	1636608	1636255	91
489	453183	454601	1636195	1634777	814
490	454835	455341	1634543	1634037	439
491	455338	455502	1634040	1633876	92
492	456330	456662	1633048	1632716	815
493	456623	456835	1632755	1632543	440
494	456838	457587	1632540	1631791	93
495	457618	458184	1631760	1631194	94
496	458476	459126	1630902	1630252	95

497	459138	459680	1630240	1629698	1775
498	459718	460674	1629660	1628704	96
499	460667	461935	1628711	1627443	2084
500	462618	463808	1626760	1625570	1774
501	464266	464421	1625112	1624957	1391
502	464460	464972	1624918	1624406	1773
503	465336	466562	1624042	1622816	816
504	466632	466847	1622746	1622531	1772
505	466975	467631	1622403	1621747	97
506	467628	468806	1621750	1620572	1771
507	471018	472637	1618360	1616741	1770
508	472691	474145	1616687	1615233	2083
509	474239	475240	1615139	1614138	441
510	475250	475708	1614128	1613670	442
511	475702	477042	1613676	1612336	98
512	477049	477657	1612329	1611721	99
513	477738	478031	1611640	1611347	817
514	477971	479050	1611407	1610328	2082
515	478881	479639	1610497	1609739	818
516	479629	480162	1609749	1609216	1390
517	480198	480755	1609180	1608623	1769
518	480843	481127	1608535	1608251	1768
519	481315	482679	1608063	1606699	100
520	484981	485445	1604397	1603933	101
521	485442	486008	1603936	1603370	1767
522	486065	486484	1603313	1602894	443
523	486481	488979	1602897	1600399	1389
524	489517	490644	1599861	1598734	1388

525	490744	491844	1598634	1597534	102
526	491922	493376	1597456	1596002	819
527	493561	495408	1595817	1593970	103
528	495410	496480	1593968	1592898	444
529	497090	499186	1592288	1590192	445
530	499596	499949	1589782	1589429	1766
531	500938	501252	1588440	1588126	1387
532	501249	501479	1588129	1587899	1765
533	501658	502464	1587720	1586914	1386
534	502547	502792	1586831	1586586	2081
535	502785	502967	1586593	1586411	1764
536	503187	503354	1586191	1586024	820
537	504971	505099	1584407	1584279	446
538	506242	506664	1583136	1582714	1385
539	507506	507592	1581872	1581786	447
540	508803	509420	1580575	1579958	1763
541	510163	510879	1579215	1578499	1384
542	511923	512477	1577455	1576901	1762
543	513104	513481	1576274	1575897	448
544	513710	514261	1575668	1575117	2080
545	514843	515223	1574535	1574155	1383
546	515543	515791	1573835	1573587	2079
547	517003	517803	1572375	1571575	1382
548	517805	518281	1571573	1571097	2078
549	518278	518760	1571100	1570618	1381
550	518772	519575	1570606	1569803	1761
551	519579	519809	1569799	1569569	1760

552	520158	520541	1569220	1568837	1759
553	520694	522628	1568684	1566750	2077
554	522837	524828	1566541	1564550	1758
555	524728	525042	1564650	1564336	1380
556	525397	525585	1563981	1563793	1379
557	525884	526483	1563494	1562895	2076
558	527199	527468	1562179	1561910	821
559	527689	528324	1561689	1561054	104
560	528364	528969	1561014	1560409	105
561	528984	529217	1560394	1560161	822
562	529214	529528	1560164	1559850	449
563	529509	529739	1559869	1559639	823
564	529736	529981	1559642	1559397	450
565	529978	530385	1559400	1558993	106
566	530659	532146	1558719	1557232	107
567	532123	532530	1557255	1556848	1378
568	532615	533754	1556763	1555624	108
569	533789	534916	1555589	1554462	451
570	534917	535363	1554461	1554015	2075
571	535366	536694	1554012	1552684	1377
572	536818	536871	1552560	1552507	1376
573	536998	537846	1552380	1551532	109
574	537847	538209	1551531	1551169	110
575	538230	539297	1551148	1550081	824
576	539304	540950	1550074	1548428	825
577	540986	541681	1548392	1547697	452
578	541671	542294	1547707	1547084	826

579	542291	542914	1547087	1546464	453
580	542904	545159	1546474	1544219	827
581	545191	545688	1544187	1543690	111
582	545706	546455	1543672	1542923	828
583	546468	547502	1542910	1541876	829
584	547499	547759	1541879	1541619	454
585	547830	548183	1541548	1541195	830
586	548218	548553	1541160	1540825	112
587	548531	549514	1540847	1539864	455
588	549515	549850	1539863	1539528	456
589	550080	551150	1539298	1538228	831
590	551249	552460	1538129	1536918	457
591	552309	553043	1537069	1536335	832
592	553133	553699	1536245	1535679	458
593	553745	554734	1535633	1534644	2074
594	554855	555676	1534523	1533702	459
595	555783	556910	1533595	1532468	1757
596	556879	558105	1532499	1531273	1375
597	558125	558196	1531253	1531182	2073
598	558864	559322	1530514	1530056	1756
599	559506	560798	1529872	1528580	833
600	560838	562364	1528540	1527014	834
601	562361	563395	1527017	1525983	460
602	563371	564303	1526007	1525075	113
603	564310	565311	1525068	1524067	1374
604	565409	567541	1523969	1521837	461

605	567556	567786	1521822	1521592	1373
606	567865	568512	1521513	1520866	1372
607	568711	570129	1520667	1519249	114
608	570172	570729	1519206	1518649	1371
609	570898	570957	1518480	1518421	115
610	571031	571738	1518347	1517640	462
611	571735	572070	1517643	1517308	1370
612	572149	574656	1517229	1514722	1369
613	574653	575411	1514725	1513967	1755
614	575490	576503	1513888	1512875	1754
615	576540	577586	1512838	1511792	1753
616	577750	578565	1511628	1510813	116
617	578612	579025	1510766	1510353	463
618	579392	579454	1509986	1509924	464
619	580461	580553	1508917	1508825	1752
620	581070	581168	1508308	1508210	1751
621	582573	583445	1506805	1505933	1750
622	583582	585228	1505796	1504150	1368
623	585396	586382	1503982	1502996	835
624	587383	587667	1501995	1501711	1367
625	588220	589968	1501158	1499410	1366
626	590029	591039	1499349	1498339	1365
627	591078	592301	1498300	1497077	1749
628	592190	593191	1497188	1496187	465
629	593214	593957	1496164	1495421	836

630	593914	594495	1495464	1494883	117
631	594739	594795	1494639	1494583	1364
632	595329	595610	1494049	1493768	837
633	595427	597550	1493951	1491828	466
634	597520	597798	1491858	1491580	1363
635	598695	599399	1490683	1489979	1748
636	599396	600097	1489982	1489281	2072
637	600094	600945	1489284	1488433	1362
638	600958	600999	1488420	1488379	1361
639	601388	601828	1487990	1487550	467
640	601912	602571	1487466	1486807	1360
641	602643	603974	1486735	1485404	1747
642	603976	605406	1485402	1483972	1359
643	605506	605823	1483872	1483555	118
644	605856	606749	1483522	1482629	1746
645	606746	607678	1482632	1481700	2071
646	607678	608625	1481700	1480753	1358
647	608720	609349	1480658	1480029	468
648	609665	611200	1479713	1478178	469
649	611281	612924	1478097	1476454	119
650	612921	613868	1476457	1475510	838
651	613855	614616	1475523	1474762	120
652	614613	615374	1474765	1474004	839
653	615379	616116	1473999	1473262	121
654	616117	616626	1473261	1472752	1357

655	616713	617375	1472665	1472003	840
656	617430	618005	1471948	1471373	1745
657	617873	619891	1471505	1469487	2070
658	619888	620115	1469490	1469263	1356
659	620116	620346	1469262	1469032	1355
660	620526	621581	1468852	1467797	841
661	621554	622366	1467824	1467012	470
662	622338	623402	1467040	1465976	842
663	623814	624353	1465564	1465025	1744
664	624301	624510	1465077	1464868	1354
665	624735	625205	1464643	1464173	1743
666	625223	625891	1464155	1463487	471
667	625916	626170	1463462	1463208	472
668	626202	626936	1463176	1462442	1742
669	626909	627853	1462469	1461525	2069
670	627832	628989	1461546	1460389	1353
671	629061	629687	1460317	1459691	1741
672	629684	631024	1459694	1458354	2068
673	631021	631839	1458357	1457539	1352
674	631871	632350	1457507	1457028	473
675	632430	632630	1456948	1456748	843
676	632617	633099	1456761	1456279	122
677	633112	633933	1456266	1455445	123

678	633964	634764	1455414	1454614	124
679	634815	635330	1454563	1454048	1740
680	635934	636071	1453444	1453307	1739
681	637143	637451	1452235	1451927	844
682	637487	638062	1451891	1451316	474
683	638134	639000	1451244	1450378	1351
684	639553	639651	1449825	1449727	125
685	639626	640396	1449752	1448982	2067
686	640393	641181	1448985	1448197	1350
687	641204	641923	1448174	1447455	2066
688	641972	642490	1447406	1446888	475
689	642511	643098	1446867	1446280	1349
690	643209	643670	1446169	1445708	845
691	644598	646496	1444780	1442882	1738
692	647573	650017	1441805	1439361	476
693	650078	650584	1439300	1438794	477
694	650587	651087	1438791	1438291	126
695	651198	652340	1438180	1437038	846
696	652343	653548	1437035	1435830	2065
697	653784	655079	1435594	1434299	847
698	655937	657688	1433441	1431690	2064
699	657722	658642	1431656	1430736	2063
700	658773	659825	1430605	1429553	1737
701	659850	660155	1429528	1429223	1736
702	660246	664418	1429132	1424960	848
703	664498	665586	1424880	1423792	127

704	665627	665995	1423751	1423383	478
705	666332	666616	1423046	1422762	2062
706	666618	667169	1422760	1422209	1735
707	667123	667176	1422255	1422202	128
708	667218	667724	1422160	1421654	1734
709	667824	669488	1421554	1419890	849
710	669735	671918	1419643	1417460	850
711	673707	673985	1415671	1415393	851
712	674033	674911	1415345	1414467	479
713	674957	675970	1414421	1413408	480
714	676425	677294	1412953	1412084	852
715	677302	678150	1412076	1411228	1348
716	678143	679063	1411235	1410315	2061
717	679100	679813	1410278	1409565	2060
718	679850	679924	1409528	1409454	481
719	680156	680470	1409222	1408908	482
720	680606	681754	1408772	1407624	483
721	682401	682496	1406977	1406882	853
722	682446	682799	1406932	1406579	1733
723	682717	684711	1406661	1404667	129
724	684698	685174	1404680	1404204	2059
725	686253	686873	1403125	1402505	1732
726	686863	687633	1402515	1401745	1347
727	687638	688447	1401740	1400931	2058
728	688516	689571	1400862	1399807	130
729	689568	690029	1399810	1399349	854
730	690316	690513	1399062	1398865	1346
731	690550	691353	1398828	1398025	1345
732	691387	692820	1397991	1396558	1344

733	692817	694928	1396561	1394450	1731
734	694986	695405	1394392	1393973	1730
735	695410	696654	1393968	1392724	1343
736	696651	697808	1392727	1391570	1729
737	697801	699510	1391577	1389868	1342
738	699507	700274	1389871	1389104	1728
739	700228	701004	1389150	1388374	1341
740	701037	701399	1388341	1387979	1727
741	701550	702359	1387828	1387019	855
742	702356	703177	1387022	1386201	484
743	703152	703868	1386226	1385510	856
744	703837	705249	1385541	1384129	1340
745	705309	706460	1384069	1382918	857
746	706455	706655	1382923	1382723	1726
747	706739	708556	1382639	1380822	485
748	708558	711569	1380820	1377809	858
749	711859	712440	1377519	1376938	131
750	712445	713191	1376933	1376187	2057
751	713142	713633	1376236	1375745	859
752	713693	714955	1375685	1374423	2056
753	715024	715470	1374354	1373908	1339
754	715543	716427	1373835	1372951	1338
755	716424	718136	1372954	1371242	1725
756	718317	719339	1371061	1370039	860
757	719507	719788	1369871	1369590	486

758	719790	720593	1369588	1368785	1724
759	720689	721426	1368689	1367952	2055
760	721789	722304	1367589	1367074	132
761	722344	722481	1367034	1366897	1337
762	722592	723116	1366786	1366262	861
763	723142	724314	1366236	1365064	1336
764	724419	725573	1364959	1363805	1723
765	725704	726249	1363674	1363129	133
766	726458	726643	1362920	1362735	487
767	728745	728798	1360633	1360580	862
768	729082	729786	1360296	1359592	1335
769	729844	730989	1359534	1358389	134
770	730961	731485	1358417	1357893	488
771	731586	733985	1357792	1355393	863
772	734016	734336	1355362	1355042	864
773	734349	734939	1355029	1354439	1722
774	735215	735760	1354163	1353618	489
775	735762	735941	1353616	1353437	865
776	735965	737146	1353413	1352232	2054
777	737210	737683	1352168	1351695	490
778	737822	739696	1351556	1349682	2053
779	739687	740523	1349691	1348855	1334
780	740584	741294	1348794	1348084	135
781	741329	741541	1348049	1347837	491
782	741920	742084	1347458	1347294	492
783	742684	743376	1346694	1346002	136
784	743424	743609	1345954	1345769	866
785	743587	744603	1345791	1344775	1333
786	744560	745372	1344818	1344006	493

787	745369	746826	1344009	1342552	137
788	746823	747761	1342555	1341617	1721
789	747766	748353	1341612	1341025	1332
790	748338	749033	1341040	1340345	1720
791	749030	749443	1340348	1339935	2052
792	749440	749877	1339938	1339501	1331
793	750208	750714	1339170	1338664	1330
794	751954	752967	1337424	1336411	138
795	753046	754110	1336332	1335268	139
796	754166	755410	1335212	1333968	2051
797	755496	756431	1333882	1332947	867
798	756477	756968	1332901	1332410	868
799	756958	757629	1332420	1331749	1329
800	757712	758458	1331666	1330920	2050
801	758689	759645	1330689	1329733	140
802	759762	760691	1329616	1328687	869
803	760688	761674	1328690	1327704	2049
804	762327	763418	1327051	1325960	870
805	763396	764058	1325982	1325320	141
806	765200	765316	1324178	1324062	2048
807	765637	766047	1323741	1323331	142
808	766138	766683	1323240	1322695	143
809	766685	767974	1322693	1321404	494
810	767976	768434	1321402	1320944	871
811	768477	769343	1320901	1320035	872
812	769459	769962	1319919	1319416	144

813	769950	771269	1319428	1318109	873
814	771283	771807	1318095	1317571	1328
815	771820	773541	1317558	1315837	145
816	773543	774817	1315835	1314561	495
817	774838	775089	1314540	1314289	146
818	775493	776422	1313885	1312956	496
819	776480	777643	1312898	1311735	497
820	778176	778346	1311202	1311032	874
821	778362	779411	1311016	1309967	875
822	779336	780247	1310042	1309131	498
823	780438	782276	1308940	1307102	876
824	782329	783108	1307049	1306270	147
825	783098	784927	1306280	1304451	2047
826	785382	786104	1303996	1303274	1719
827	786218	786838	1303160	1302540	2046
828	786930	787286	1302448	1302092	1718
829	787283	787609	1302095	1301769	2045
830	787749	788930	1301629	1300448	1717
831	788975	789268	1300403	1300110	499
832	789317	789460	1300061	1299918	2044
833	789852	790022	1299526	1299356	1716
834	790438	791058	1298940	1298320	1327
835	790672	790737	1298706	1298641	148
836	791117	792469	1298261	1296909	500
837	792505	792675	1296873	1296703	149
838	792665	793114	1296713	1296264	501

839	793111	795000	1296267	1294378	150
840	795038	795544	1294340	1293834	502
841	796310	797536	1293068	1291842	2043
842	797552	798316	1291826	1291062	2042
843	798473	799534	1290905	1289844	503
844	799610	799858	1289768	1289520	504
845	799848	800327	1289530	1289051	877
846	800324	800425	1289054	1288953	2041
847	800450	800518	1288928	1288860	2040
848	800919	802424	1288459	1286954	878
849	802436	802672	1286942	1286706	505
850	802669	802890	1286709	1286488	151
851	802887	803297	1286491	1286081	879
852	803294	805027	1286084	1284351	506
853	805220	806068	1284158	1283310	507
854	806024	807415	1283354	1281963	2039
855	807366	808745	1282012	1280633	880
856	808746	809576	1280632	1279802	1715
857	810847	811266	1278531	1278112	1326
858	811367	811606	1278011	1277772	508
859	811608	812351	1277770	1277027	881
860	812635	813648	1276743	1275730	152
861	813652	814113	1275726	1275265	153
862	814077	816419	1275301	1272959	882
863	816501	816650	1272877	1272728	883

864	816754	817728	1272624	1271650	154
865	817725	818519	1271653	1270859	884
866	818623	819468	1270755	1269910	155
867	819475	820395	1269903	1268983	156
868	820410	821180	1268968	1268198	1714
869	821146	822570	1268232	1266808	1325
870	822810	823514	1266568	1265864	1713
871	823599	824021	1265779	1265357	885
872	824015	825196	1265363	1264182	2038
873	825266	826294	1264112	1263084	2037
874	826379	827413	1262999	1261965	2036
875	827435	828904	1261943	1260474	2035
876	828985	829728	1260393	1259650	1324
877	829725	830471	1259653	1258907	1712
878	830551	832368	1258827	1257010	157
879	832337	833035	1257041	1256343	509
880	836010	837260	1253368	1252118	1711
881	837335	837601	1252043	1251777	2034
882	837647	839638	1251731	1249740	2033
883	839649	839885	1249729	1249493	1710
884	840097	840471	1249281	1248907	158

885	840503	841321	1248875	1248057	510
886	841293	842288	1248085	1247090	886
887	842275	842628	1247103	1246750	159
888	842986	844059	1246392	1245319	1323
889	844320	844517	1245058	1244861	1709
890	844597	845652	1244781	1243726	1322
891	845725	846387	1243653	1242991	160
892	846422	846727	1242956	1242651	511
893	846773	847903	1242605	1241475	512
894	847896	848990	1241482	1240388	887
895	848774	848884	1240604	1240494	2032
896	848987	849100	1240391	1240278	2031
897	849375	849638	1240003	1239740	1708
898	849669	851036	1239709	1238342	1707
899	851134	851325	1238244	1238053	1321
900	851346	851582	1238032	1237796	1706
901	851738	854035	1237640	1235343	513
902	851818	851883	1237560	1237495	1320
903	854126	855841	1235252	1233537	514
904	855888	856652	1233490	1232726	888
905	856637	856798	1232741	1232580	2030
906	857151	858227	1232227	1231151	889
907	858728	858934	1230650	1230444	515
908	860080	860340	1229298	1229038	161
909	860404	861084	1228974	1228294	1319
910	861133	862545	1228245	1226833	1318

911	862729	864021	1226649	1225357	1317
912	864121	864819	1225257	1224559	1316
913	865002	865454	1224376	1223924	890
914	865387	866304	1223991	1223074	162
915	866496	868313	1222882	1221065	891
916	868296	868430	1221082	1220948	1705
917	868444	870222	1220934	1219156	163
918	870263	870547	1219115	1218831	516
919	870532	870840	1218846	1218538	164
920	870842	871846	1218536	1217532	517
921	871836	872120	1217542	1217258	892
922	871942	872775	1217436	1216603	165
923	872833	873117	1216545	1216261	166
924	873524	874306	1215854	1215072	518
925	874707	874940	1214671	1214438	893
926	875022	875840	1214356	1213538	894
927	875837	876856	1213541	1212522	2029
928	877020	877235	1212358	1212143	895
929	877271	878197	1212107	1211181	519
930	878209	878658	1211169	1210720	1315
931	878718	878765	1210660	1210613	896
932	878886	879182	1210492	1210196	897
933	879211	880500	1210167	1208878	167
934	880506	881387	1208872	1207991	898
935	881550	881654	1207828	1207724	899
936	882812	882925	1206566	1206453	2028
937	885694	886539	1203684	1202839	1314
938	886567	887178	1202811	1202200	1313

939	887275	887487	1202103	1201891	168
940	887717	887920	1201661	1201458	520
941	887924	890701	1201454	1198677	521
942	891114	891398	1198264	1197980	900
943	891434	895009	1197944	1194369	522
944	895013	895678	1194365	1193700	523
945	895675	896097	1193703	1193281	1312
946	896626	899040	1192752	1190338	169
947	899156	900004	1190222	1189374	2027
948	900134	900385	1189244	1188993	524
949	901696	902574	1187682	1186804	1311
950	902700	903458	1186678	1185920	1704
951	903912	904115	1185466	1185263	1703
952	904127	904555	1185251	1184823	2026
953	904610	905026	1184768	1184352	525
954	905105	906898	1184273	1182480	526
955	906982	907974	1182396	1181404	170
956	907975	908217	1181403	1181161	1310
957	908370	909260	1181008	1180118	1702
958	909301	910116	1180077	1179262	171
959	910097	910516	1179281	1178862	527
960	910513	912024	1178865	1177354	172
961	912021	912893	1177357	1176485	1701
962	912890	914188	1176488	1175190	2025
963	914305	914493	1175073	1174885	173
964	914711	915121	1174667	1174257	528
965	915118	916428	1174260	1172950	174
966	916589	917257	1172789	1172121	529
967	917348	918352	1172030	1171026	530
968	918655	918705	1170723	1170673	1309
969	918719	919171	1170659	1170207	2024

970	919305	923264	1170073	1166114	901
971	924116	924814	1165262	1164564	2023
972	925010	927244	1164368	1162134	531
973	927249	927578	1162129	1161800	1700
974	928257	929309	1161121	1160069	1699
975	929424	929705	1159954	1159673	1698
976	930480	931013	1158898	1158365	1697
977	931103	931576	1158275	1157802	532
978	931594	932070	1157784	1157308	175
979	932526	933086	1156852	1156292	902
980	933128	933430	1156250	1155948	533
981	933728	933904	1155650	1155474	534
982	933919	934392	1155459	1154986	1308
983	934564	935379	1154814	1153999	176
984	935513	936664	1153865	1152714	2022
985	936666	936944	1152712	1152434	1696
986	936987	938822	1152391	1150556	1695
987	938954	940192	1150424	1149186	535
988	940239	940469	1149139	1148909	903
989	940803	940937	1148575	1148441	904
990	940934	942055	1148444	1147323	536
991	942591	942917	1146787	1146461	905
992	942914	943306	1146464	1146072	2021
993	943357	943545	1146021	1145833	1307
994	943533	943778	1145845	1145600	1694
995	943889	944536	1145489	1144842	2020

996	944542	944994	1144836	1144384	1306
997	944996	945436	1144382	1143942	2019
998	945433	945741	1143945	1143637	1305
999	945755	946939	1143623	1142439	2018
1000	946932	948164	1142446	1141214	1693
1001	948079	949662	1141299	1139716	1304
1002	949659	953030	1139719	1136348	1692
1003	953048	953296	1136330	1136082	2017
1004	953495	954190	1135883	1135188	2016
1005	954301	955020	1135077	1134358	177
1006	955204	956391	1134174	1132987	178
1007	956375	956533	1133003	1132845	2015
1008	957270	957638	1132108	1131740	906
1009	957640	961329	1131738	1128049	1303
1010	961407	962324	1127971	1127054	907
1011	962372	962575	1127006	1126803	537
1012	962593	963804	1126785	1125574	1302
1013	964168	964827	1125210	1124551	179
1014	964831	965430	1124547	1123948	1301
1015	965603	965896	1123775	1123482	538
1016	965901	966098	1123477	1123280	908
1017	966166	967002	1123212	1122376	180
1018	967002	967181	1122376	1122197	909
1019	967184	967987	1122194	1121391	539
1020	968134	968757	1121244	1120621	181
1021	968754	969002	1120624	1120376	910

1022	968995	969663	1120383	1119715	182
1023	969660	970463	1119718	1118915	911
1024	970555	971892	1118823	1117486	183
1025	971952	973340	1117426	1116038	1691
1026	973366	974772	1116012	1114606	1300
1027	974823	976277	1114555	1113101	1690
1028	976234	976803	1113144	1112575	1299
1029	976871	977053	1112507	1112325	2014
1030	977082	977765	1112296	1111613	1689
1031	977762	978706	1111616	1110672	2013
1032	978776	979747	1110602	1109631	540
1033	979826	981100	1109552	1108278	541
1034	981159	981425	1108219	1107953	1688
1035	981762	981815	1107616	1107563	1687
1036	982136	982483	1107242	1106895	542
1037	982480	982953	1106898	1106425	1298
1038	983025	983486	1106353	1105892	912
1039	983483	983821	1105895	1105557	543
1040	983802	984371	1105576	1105007	1686
1041	984359	985399	1105019	1103979	2012
1042	985204	986352	1104174	1103026	1297
1043	986349	986912	1103029	1102466	1685

1044	986851	987246	1102527	1102132	1296
1045	987243	987566	1102135	1101812	1684
1046	987517	988383	1101861	1100995	1295
1047	988383	989573	1100995	1099805	1683
1048	989577	989894	1099801	1099484	1682
1049	990762	991511	1098616	1097867	913
1050	991803	991991	1097575	1097387	914
1051	992036	993010	1097342	1096368	2011
1052	994241	995020	1095137	1094358	544
1053	995047	995112	1094331	1094266	184
1054	995380	995844	1093998	1093534	185
1055	995878	996558	1093500	1092820	1294
1056	997037	998464	1092341	1090914	545
1057	998525	999265	1090853	1090113	2010
1058	999750	1000229	1089628	1089149	915
1059	1000226	1001212	1089152	1088166	546
1060	1001217	1001987	1088161	1087391	916
1061	1002002	1003240	1087376	1086138	2009
1062	1003253	1005466	1086125	1083912	547
1063	1005467	1006087	1083911	1083291	2008
1064	1006202	1007890	1083176	1081488	2007
1065	1007979	1010192	1081399	1079186	1681
1066	1010189	1010956	1079189	1078422	2006
1067	1011011	1011949	1078367	1077429	2005
1068	1012013	1012879	1077365	1076499	548

1069	1012961	1013278	1076417	1076100	549
1070	1013371	1013883	1076007	1075495	186
1071	1013995	1014411	1075383	1074967	1293
1072	1014829	1017228	1074549	1072150	187
1073	1017331	1020711	1072047	1068667	188
1074	1020821	1020970	1068557	1068408	2004
1075	1021424	1022338	1067954	1067040	550
1076	1022319	1023311	1067059	1066067	1680
1077	1023301	1023780	1066077	1065598	1292
1078	1023781	1024785	1065597	1064593	1291
1079	1024877	1025692	1064501	1063686	551
1080	1025682	1026086	1063696	1063292	1679
1081	1026083	1026376	1063295	1063002	2003
1082	1026357	1026986	1063021	1062392	1678
1083	1026983	1027579	1062395	1061799	2002
1084	1027657	1029558	1061721	1059820	189
1085	1029517	1030068	1059861	1059310	1290
1086	1030276	1030950	1059102	1058428	1289
1087	1031013	1031807	1058365	1057571	1677
1088	1031814	1032344	1057564	1057034	1676
1089	1032406	1032792	1056972	1056586	190
1090	1032841	1034373	1056537	1055005	191
1091	1034458	1035498	1054920	1053880	192
1092	1035541	1036101	1053837	1053277	193
1093	1036098	1036649	1053280	1052729	917
1094	1036636	1037469	1052742	1051909	194

1095	1037390	1038229	1051988	1051149	2001
1096	1038226	1039704	1051152	1049674	1288
1097	1039796	1040683	1049582	1048695	552
1098	1041012	1041071	1048366	1048307	918
1099	1041624	1041935	1047754	1047443	919
1100	1042133	1042384	1047245	1046994	553
1101	1042526	1043701	1046852	1045677	554
1102	1043676	1044812	1045702	1044566	1675
1103	1044809	1046068	1044569	1043310	2000
1104	1047016	1048092	1042362	1041286	195
1105	1048209	1048610	1041169	1040768	1674
1106	1048684	1048761	1040694	1040617	1287
1107	1048718	1049599	1040660	1039779	555
1108	1049596	1051275	1039782	1038103	1286
1109	1051307	1051711	1038071	1037667	1999
1110	1051708	1051995	1037670	1037383	1285
1111	1052192	1052701	1037186	1036677	556
1112	1052753	1053022	1036625	1036356	557
1113	1053032	1053793	1036346	1035585	558
1114	1053859	1055274	1035519	1034104	196
1115	1055358	1055663	1034020	1033715	920
1116	1056285	1056395	1033093	1032983	921
1117	1056392	1057381	1032986	1031997	1998
1118	1057362	1057835	1032016	1031543	1673
1119	1057832	1058302	1031546	1031076	1997
1120	1058495	1059043	1030883	1030335	559
1121	1059047	1059307	1030331	1030071	1996

1122	1059399	1059863	1029979	1029515	1672
1123	1059921	1060517	1029457	1028861	922
1124	1060582	1061310	1028796	1028068	197
1125	1061307	1061768	1028071	1027610	1671
1126	1061878	1063221	1027500	1026157	198
1127	1063298	1064599	1026080	1024779	560
1128	1064656	1065000	1024722	1024378	1284
1129	1065370	1066023	1024008	1023355	1283
1130	1066020	1067213	1023358	1022165	1670
1131	1067215	1067811	1022163	1021567	1282
1132	1067793	1068392	1021585	1020986	1669
1133	1068394	1069287	1020984	1020091	1281
1134	1069288	1071138	1020090	1018240	1280
1135	1070858	1070965	1018520	1018413	561
1136	1071135	1072622	1018243	1016756	1668
1137	1072619	1072963	1016759	1016415	1995
1138	1072960	1073688	1016418	1015690	1279
1139	1073670	1073954	1015708	1015424	1667
1140	1073951	1074343	1015427	1015035	1994
1141	1074340	1074594	1015038	1014784	1278
1142	1074591	1075124	1014787	1014254	1666
1143	1075360	1075860	1014018	1013518	1277
1144	1076013	1077278	1013365	1012100	923
1145	1077432	1077986	1011946	1011392	924
1146	1078071	1079189	1011307	1010189	1665

1147	1079201	1080472	1010177	1008906	1993
1148	1080723	1081862	1008655	1007516	925
1149	1082285	1084639	1007093	1004739	562
1150	1082363	1082779	1007015	1006599	1992
1151	1084640	1085716	1004738	1003662	1991
1152	1085820	1086698	1003558	1002680	926
1153	1086762	1086986	1002616	1002392	927
1154	1087256	1088512	1002122	1000866	1990
1155	1088568	1088813	1000810	1000565	1664
1156	1088815	1089384	1000563	999994	1276
1157	1089160	1089210	1000218	1000168	199
1158	1089484	1089639	999894	999739	1275
1159	1089909	1090604	999469	998774	1663
1160	1091118	1091525	998260	997853	1662
1161	1091646	1092197	997732	997181	928
1162	1092206	1093522	997172	995856	1989
1163	1093556	1093957	995822	995421	1988
1164	1093967	1095127	995411	994251	1987
1165	1096375	1096839	993003	992539	200
1166	1096870	1098303	992508	991075	201
1167	1098281	1098538	991097	990840	563
1168	1098554	1099156	990824	990222	564
1169	1099220	1099486	990158	989892	565
1170	1099468	1099908	989910	989470	202
1171	1099954	1100991	989424	988387	203
1172	1101073	1101510	988305	987868	1274
1173	1101868	1102326	987510	987052	1273

1174	1102786	1103181	986592	986197	1272
1175	1103673	1104461	985705	984917	1661
1176	1104585	1106492	984793	982886	929
1177	1106686	1107264	982692	982114	1271
1178	1107524	1108015	981854	981363	1986
1179	1108559	1110253	980819	979125	1985
1180	1110347	1111819	979031	977559	566
1181	1111862	1112080	977516	977298	1984
1182	1112624	1113001	976754	976377	1983
1183	1113459	1114217	975919	975161	930
1184	1114407	1117082	974971	972296	931
1185	1117577	1118029	971801	971349	567
1186	1118086	1119738	971292	969640	1270
1187	1119840	1120178	969538	969200	932
1188	1120172	1120504	969206	968874	568
1189	1120505	1121407	968873	967971	569
1190	1121408	1122520	967970	966858	1982
1191	1122517	1123746	966861	965632	1269
1192	1123810	1124472	965568	964906	204
1193	1124569	1125114	964809	964264	1268
1194	1125170	1125637	964208	963741	1981
1195	1125727	1126902	963651	962476	205
1196	1128262	1128495	961116	960883	1267
1197	1128535	1128972	960843	960406	1266

1198	1129034	1130476	960344	958902	1980
1199	1130532	1131944	958846	957434	1660
1200	1132006	1132422	957372	956956	1265
1201	1132432	1132659	956946	956719	1264
1202	1132744	1135125	956634	954253	1263
1203	1135154	1135213	954224	954165	570
1204	1135255	1137741	954123	951637	1262
1205	1138634	1138867	950744	950511	571
1206	1139159	1142494	950219	946884	572
1207	1142537	1142836	946841	946542	573
1208	1142873	1144054	946505	945324	574
1209	1144054	1145121	945324	944257	206
1210	1145177	1146514	944201	942864	575
1211	1146553	1148040	942825	941338	207
1212	1148086	1149231	941292	940147	208
1213	1150093	1151094	939285	938284	209
1214	1151091	1154534	938287	934844	1659
1215	1155108	1155464	934270	933914	933
1216	1155466	1155999	933912	933379	1261
1217	1157418	1157627	931960	931751	1658
1218	1157624	1157836	931754	931542	1979
1219	1157916	1158293	931462	931085	1657
1220	1158361	1159554	931017	929824	1260
1221	1159686	1160306	929692	929072	1656
1222	1161299	1161634	928079	927744	1978

1223	1161690	1163606	927688	925772	1655
1224	1163703	1164656	925675	924722	934
1225	1164663	1165082	924715	924296	935
1226	1165121	1165714	924257	923664	576
1227	1165724	1165948	923654	923430	577
1228	1165959	1166231	923419	923147	936
1229	1166259	1166948	923119	922430	937
1230	1167001	1167234	922377	922144	210
1231	1167503	1168657	921875	920721	1977
1232	1168678	1169472	920700	919906	1259
1233	1169576	1171024	919802	918354	1976
1234	1171021	1171905	918357	917473	1258
1235	1172047	1172277	917331	917101	211
1236	1172264	1173025	917114	916353	1975
1237	1173022	1173636	916356	915742	1257
1238	1173687	1174022	915691	915356	938
1239	1174023	1174274	915355	915104	1654
1240	1174284	1174388	915094	914990	1653
1241	1174493	1177870	914885	911508	578
1242	1178296	1178862	911082	910516	212
1243	1178840	1179322	910538	910056	579
1244	1179335	1180606	910043	908772	1974
1245	1180603	1181361	908775	908017	1256
1246	1181719	1181916	907659	907462	1255
1247	1182281	1182673	907097	906705	1973

1248	1182899	1183855	906479	905523	580
1249	1184435	1184731	904943	904647	1972
1250	1184832	1185752	904546	903626	1652
1251	1186264	1186524	903114	902854	1254
1252	1187372	1187653	902006	901725	1971
1253	1188250	1188906	901128	900472	1253
1254	1188962	1189906	900416	899472	1970
1255	1189940	1190062	899438	899316	1969
1256	1191309	1191941	898069	897437	1651
1257	1195773	1195841	893605	893537	939
1258	1196421	1196939	892957	892439	1650
1259	1197121	1197330	892257	892048	1252
1260	1197327	1197827	892051	891551	1649
1261	1197859	1198116	891519	891262	1251
1262	1198129	1198395	891249	890983	1250
1263	1198775	1198969	890603	890409	581
1264	1199210	1199536	890168	889842	1968
1265	1200465	1200542	888913	888836	940
1266	1202741	1204258	886637	885120	1967
1267	1204260	1205624	885118	883754	1648
1268	1205780	1207075	883598	882303	1966
1269	1207362	1207793	882016	881585	941
1270	1207790	1208482	881588	880896	582
1271	1209464	1210141	879914	879237	583
1272	1210174	1210893	879204	878485	213

1273	1210890	1211111	878488	878267	942
1274	1211128	1211787	878250	877591	214
1275	1211850	1212755	877528	876623	943
1276	1212760	1213104	876618	876274	1249
1277	1213101	1214369	876277	875009	1647
1278	1214366	1215214	875012	874164	1965
1279	1215250	1215861	874128	873517	1248
1280	1217374	1217490	872004	871888	215
1281	1219074	1219190	870304	870188	944
1282	1219197	1220690	870181	868688	1646
1283	1220740	1221513	868638	867865	1247
1284	1221503	1222201	867875	867177	1964
1285	1222282	1223655	867096	865723	216
1286	1223758	1225113	865620	864265	217
1287	1225113	1225991	864265	863387	945
1288	1226169	1226861	863209	862517	946
1289	1227076	1227702	862302	861676	1246
1290	1227756	1228466	861622	860912	1645
1291	1228622	1230493	860756	858885	584
1292	1230580	1233081	858798	856297	218
1293	1233236	1234546	856142	854832	585
1294	1234563	1236284	854815	853094	1644
1295	1236584	1237978	852794	851400	1963
1296	1237975	1238376	851403	851002	1245
1297	1238433	1239707	850945	849671	1643
1298	1239791	1239994	849587	849384	1962
1299	1240125	1240214	849253	849164	947
1300	1240801	1240896	848577	848482	1244
1301	1241592	1241921	847786	847457	1642

1302	1241983	1243014	847395	846364	1243
1303	1243011	1243661	846367	845717	1641
1304	1243692	1243778	845686	845600	1640
1305	1243775	1244272	845603	845106	1961
1306	1244307	1244765	845071	844613	1639
1307	1244788	1244973	844590	844405	1242
1308	1245004	1246125	844374	843253	1241
1309	1246241	1247059	843137	842319	1960
1310	1247369	1248709	842009	840669	1959
1311	1248621	1249226	840757	840152	948
1312	1250499	1251188	838879	838190	1638
1313	1251193	1251561	838185	837817	1240
1314	1251632	1253578	837746	835800	1958
1315	1253588	1253788	835790	835590	1957
1316	1254304	1255470	835074	833908	219
1317	1255582	1256436	833796	832942	1239
1318	1256379	1256846	832999	832532	1637
1319	1257402	1258961	831976	830417	949
1320	1258972	1259079	830406	830299	220
1321	1259124	1259858	830254	829520	950
1322	1259855	1260172	829523	829206	1956
1323	1260229	1262256	829149	827122	1238
1324	1262388	1262651	826990	826727	951
1325	1262709	1264661	826669	824717	952
1326	1264658	1265074	824720	824304	1955
1327	1265145	1265591	824233	823787	953

1328	1265593	1266390	823785	822988	221
1329	1266750	1267955	822628	821423	954
1330	1268130	1269137	821248	820241	1636
1331	1269155	1270042	820223	819336	1954
1332	1270062	1271162	819316	818216	1635
1333	1271162	1272181	818216	817197	1953
1334	1272174	1273103	817204	816275	1634
1335	1273100	1274158	816278	815220	1952
1336	1274151	1275281	815227	814097	1633
1337	1275461	1276135	813917	813243	1951
1338	1276120	1276689	813258	812689	1237
1339	1276727	1278301	812651	811077	1950
1340	1278636	1279535	810742	809843	1632
1341	1279958	1280587	809420	808791	1949
1342	1280661	1281740	808717	807638	955
1343	1281804	1282397	807574	806981	1631
1344	1282384	1283034	806994	806344	1236
1345	1283055	1284251	806323	805127	1630
1346	1284667	1285869	804711	803509	222
1347	1285975	1289823	803403	799555	223
1348	1290019	1292922	799359	796456	224
1349	1293396	1293860	795982	795518	1629
1350	1294892	1295722	794486	793656	586
1351	1295748	1297115	793630	792263	956
1352	1297116	1298444	792262	790934	1628
1353	1298625	1298846	790753	790532	957

1354	1299189	1300220	790189	789158	1627
1355	1300290	1301624	789088	787754	1626
1356	1301759	1302934	787619	786444	1948
1357	1302931	1303617	786447	785761	1235
1358	1303690	1304454	785688	784924	1234
1359	1304451	1305239	784927	784139	1625
1360	1305236	1306249	784142	783129	1947
1361	1306246	1306722	783132	782656	1233
1362	1306665	1307039	782713	782339	1624
1363	1307076	1307963	782302	781415	1623
1364	1307989	1309053	781389	780325	1232
1365	1309106	1309948	780272	779430	587
1366	1309950	1311020	779428	778358	958
1367	1311965	1313317	777413	776061	1946
1368	1313412	1314224	775966	775154	1622
1369	1315661	1315879	773717	773499	1945
1370	1316041	1316151	773337	773227	1231
1371	1316410	1317765	772968	771613	225
1372	1317762	1318001	771616	771377	959
1373	1317998	1318528	771380	770850	588
1374	1318585	1319298	770793	770080	226
1375	1319308	1319637	770070	769741	227
1376	1319620	1320078	769758	769300	1230
1377	1321326	1322096	768052	767282	960
1378	1322102	1322401	767276	766977	1944

1379	1322840	1323004	766538	766374	1943
1380	1323183	1323788	766195	765590	1621
1381	1323802	1324827	765576	764551	1229
1382	1325139	1325336	764239	764042	1620
1383	1325369	1325800	764009	763578	1942
1384	1325787	1326215	763591	763163	1619
1385	1326222	1326593	763156	762785	1618
1386	1326738	1327526	762640	761852	1617
1387	1327548	1327970	761830	761408	1616
1388	1327967	1328509	761411	760869	1941
1389	1328520	1329077	760858	760301	1615
1390	1329084	1329671	760294	759707	1614
1391	1330058	1330213	759320	759165	589
1392	1330540	1331565	758838	757813	1228
1393	1331777	1332007	757601	757371	1940
1394	1332043	1332753	757335	756625	1227
1395	1332861	1333112	756517	756266	1613
1396	1333113	1333694	756265	755684	1612
1397	1333706	1333999	755672	755379	1939
1398	1334020	1334550	755358	754828	1226
1399	1334537	1335136	754841	754242	1938
1400	1335210	1336667	754168	752711	1611
1401	1336699	1337145	752679	752233	1225
1402	1337157	1337624	752221	751754	1610
1403	1337636	1338343	751742	751035	1937
1404	1338340	1338954	751038	750424	1224
1405	1338956	1339411	750422	749967	1936
1406	1339413	1339793	749965	749585	1609
1407	1339810	1340373	749568	749005	1223
1408	1340375	1340767	749003	748611	1935
1409	1340779	1340949	748599	748429	1222
1410	1340951	1341502	748427	747876	1934

1411	1341516	1342247	747862	747131	1608
1412	1342247	1342612	747131	746766	1933
1413	1342624	1343049	746754	746329	1221
1414	1343053	1343406	746325	745972	1220
1415	1343394	1343660	745984	745718	1607
1416	1343657	1343953	745721	745425	1932
1417	1343960	1344160	745418	745218	1931
1418	1344147	1344785	745231	744593	1606
1419	1344782	1345252	744596	744126	1930
1420	1345263	1345673	744115	743705	1605
1421	1345670	1346398	743708	742980	1929
1422	1346403	1346663	742975	742715	1604
1423	1346670	1347437	742708	741941	1603
1424	1347448	1348488	741930	740890	1219
1425	1348490	1349344	740888	740034	1928
1426	1349882	1351258	739496	738120	1927
1427	1351322	1352506	738056	736872	1926
1428	1352613	1353269	736765	736109	1602
1429	1354574	1355740	734804	733638	590
1430	1355821	1356402	733557	732976	1218
1431	1356606	1357514	732772	731864	961
1432	1357517	1358350	731861	731028	1925
1433	1358441	1359433	730937	729945	1924
1434	1361181	1362461	728197	726917	962
1435	1362449	1362523	726929	726855	591
1436	1363010	1363930	726368	725448	1923
1437	1363972	1365465	725406	723913	1217
1438	1365589	1366155	723789	723223	228
1439	1366195	1367346	723183	722032	229
1440	1367357	1368481	722021	720897	592

1441	1368582	1369193	720796	720185	963
1442	1369248	1370567	720130	718811	964
1443	1370627	1370989	718751	718389	1922
1444	1371847	1372125	717531	717253	230
1445	1372322	1373752	717056	715626	593
1446	1373902	1376664	715476	712714	231
1447	1376921	1378402	712457	710976	594
1448	1378470	1379534	710908	709844	1601
1449	1379649	1380014	709729	709364	965
1450	1379981	1380445	709397	708933	1921
1451	1380532	1381284	708846	708094	1216
1452	1381281	1382687	708097	706691	1600
1453	1382767	1384572	706611	704806	232
1454	1384569	1385354	704809	704024	1599
1455	1385351	1385914	704027	703464	1920
1456	1386061	1387578	703317	701800	1215
1457	1387922	1388011	701456	701367	595
1458	1388004	1389050	701374	700328	1598
1459	1388485	1388589	700893	700789	233
1460	1389047	1389982	700331	699396	1919
1461	1390108	1390617	699270	698761	234
1462	1390656	1391165	698722	698213	966
1463	1391397	1391669	697981	697709	967
1464	1393980	1394540	695398	694838	968
1465	1396169	1396951	693209	692427	596
1466	1396965	1397522	692413	691856	969
1467	1397528	1397968	691850	691410	1918

1468	1398271	1399176	691107	690202	235
1469	1399173	1400693	690205	688685	970
1470	1400690	1401382	688688	687996	597
1471	1401502	1401813	687876	687565	236
1472	1401815	1403806	687563	685572	598
1473	1403824	1404309	685554	685069	237
1474	1404349	1404960	685029	684418	238
1475	1404957	1406060	684421	683318	971
1476	1406057	1406365	683321	683013	599
1477	1406372	1407382	683006	681996	600
1478	1407475	1408257	681903	681121	239
1479	1408254	1409654	681124	679724	972
1480	1409674	1410327	679704	679051	240
1481	1410413	1411189	678965	678189	601
1482	1411199	1411954	678179	677424	602
1483	1411938	1413167	677440	676211	973
1484	1413235	1413960	676143	675418	241
1485	1413935	1414642	675443	674736	603
1486	1414943	1415797	674435	673581	604
1487	1415800	1418658	673578	670720	1214
1488	1418655	1420457	670723	668921	1597
1489	1420450	1420923	668928	668455	1213
1490	1421049	1422080	668329	667298	1596

1491	1422217	1422759	667161	666619	242
1492	1422740	1423594	666638	665784	1917
1493	1423617	1424129	665761	665249	1595
1494	1424266	1424787	665112	664591	243
1495	1424787	1428260	664591	661118	974
1496	1428306	1428734	661072	660644	975
1497	1428842	1430410	660536	658968	605
1498	1430421	1430807	658957	658571	976
1499	1430801	1431283	658577	658095	606
1500	1431290	1432483	658088	656895	607
1501	1432547	1433398	656831	655980	608
1502	1433432	1434445	655946	654933	609
1503	1434874	1435398	654504	653980	244
1504	1435395	1436108	653983	653270	1594
1505	1436180	1436593	653198	652785	1916
1506	1436645	1436935	652733	652443	1915
1507	1436958	1437776	652420	651602	1593
1508	1437769	1438527	651609	650851	1212
1509	1438502	1439275	650876	650103	1914
1510	1439272	1439982	650106	649396	1211
1511	1439994	1440776	649384	648602	1592
1512	1441115	1441582	648263	647796	610
1513	1441557	1441976	647821	647402	1591
1514	1441888	1442184	647490	647194	1210
1515	1442268	1442525	647110	646853	977

1516	1442602	1444524	646776	644854	245
1517	1444521	1444967	644857	644411	1590
1518	1445288	1446001	644090	643377	1913
1519	1446421	1446744	642957	642634	1209
1520	1447018	1447827	642360	641551	246
1521	1447763	1448299	641615	641079	1912
1522	1448354	1448527	641024	640851	1911
1523	1448733	1449227	640645	640151	978
1524	1449764	1450072	639614	639306	611
1525	1450076	1451272	639302	638106	612
1526	1451362	1452348	638016	637030	247
1527	1452345	1452566	637033	636812	1589
1528	1452921	1453571	636457	635807	1588
1529	1453739	1453954	635639	635424	613
1530	1454658	1454753	634720	634625	1587
1531	1455780	1457495	633598	631883	1586
1532	1458373	1458516	631005	630862	1208
1533	1460859	1461371	628519	628007	1585
1534	1461343	1461726	628035	627652	1207
1535	1462494	1463108	626884	626270	1584
1536	1463105	1464283	626273	625095	1910
1537	1464255	1466492	625123	622886	1583
1538	1466599	1467609	622779	621769	1206
1539	1467655	1467744	621723	621634	248
1540	1467769	1467906	621609	621472	249
1541	1467891	1468676	621487	620702	1582
1542	1468498	1469019	620880	620359	1205
1543	1469265	1470533	620113	618845	979

1544	1470609	1471790	618769	617588	1581
1545	1471812	1471937	617566	617441	1580
1546	1471870	1472673	617508	616705	250
1547	1474731	1474928	614647	614450	1579
1548	1475072	1475983	614306	613395	1909
1549	1477107	1477574	612271	611804	980
1550	1477584	1479029	611794	610349	1578
1551	1479030	1479884	610348	609494	1577
1552	1480088	1480873	609290	608505	614
1553	1480960	1481781	608418	607597	1204
1554	1481753	1481869	607625	607509	1908
1555	1482049	1482780	607329	606598	1203
1556	1484422	1486413	604956	602965	251
1557	1486448	1488211	602930	601167	615
1558	1488253	1489308	601125	600070	1202
1559	1489417	1490157	599961	599221	252
1560	1490211	1490753	599167	598625	981
1561	1490896	1491087	598482	598291	253
1562	1491222	1491395	598156	597983	1576
1563	1491406	1491738	597972	597640	1201
1564	1491692	1492225	597686	597153	1907
1565	1492222	1492431	597156	596947	1200
1566	1492428	1493000	596950	596378	1575
1567	1493037	1493573	596341	595805	1574
1568	1493631	1494593	595747	594785	1573
1569	1494613	1495560	594765	593818	1199

1570	1495557	1496564	593821	592814	1572
1571	1496677	1497216	592701	592162	1198
1572	1497231	1497902	592147	591476	1571
1573	1498015	1498506	591363	590872	1197
1574	1499893	1500954	589485	588424	1196
1575	1500975	1501334	588403	588044	982
1576	1501234	1501755	588144	587623	254
1577	1501752	1502747	587626	586631	983
1578	1502782	1504029	586596	585349	255
1579	1503705	1503881	585673	585497	1570
1580	1506454	1507683	582924	581695	256
1581	1507680	1508369	581698	581009	984
1582	1508513	1509250	580865	580128	616
1583	1509284	1511584	580094	577794	1906
1584	1512986	1513759	576392	575619	617
1585	1513756	1514835	575622	574543	257
1586	1515877	1516842	573501	572536	258
1587	1518510	1518569	570868	570809	1569
1588	1519816	1521600	569562	567778	259
1589	1519824	1519925	569554	569453	1568
1590	1521735	1522592	567643	566786	985
1591	1523210	1524667	566168	564711	618
1592	1525075	1526076	564303	563302	260

1593	1526066	1526449	563312	562929	1905
1594	1529489	1530295	559889	559083	619
1595	1530296	1530733	559082	558645	620
1596	1530894	1536164	558484	553214	986
1597	1536298	1536771	553080	552607	261
1598	1536811	1537365	552567	552013	262
1599	1540326	1541702	549052	547676	987
1600	1541901	1543691	547477	545687	1567
1601	1543754	1544062	545624	545316	621
1602	1544093	1544920	545285	544458	622
1603	1544970	1545347	544408	544031	988
1604	1545432	1545968	543946	543410	1566
1605	1546165	1549362	543213	540016	263
1606	1549370	1549522	540008	539856	1904
1607	1550195	1551454	539183	537924	1903
1608	1551384	1551506	537994	537872	989
1609	1551637	1552008	537741	537370	1195
1610	1551975	1552217	537403	537161	1565
1611	1552330	1553088	537048	536290	264
1612	1553108	1555480	536270	533898	1902
1613	1555474	1556295	533904	533083	1194
1614	1556455	1557438	532923	531940	1193
1615	1557416	1558507	531962	530871	1901
1616	1558390	1559334	530988	530044	1192
1617	1559337	1560350	530041	529028	1564

1618	1560382	1561011	528996	528367	1191
1619	1561392	1562597	527986	526781	1563
1620	1562832	1564286	526546	525092	990
1621	1564489	1564938	524889	524440	265
1622	1564960	1565772	524418	523606	1190
1623	1565943	1569653	523435	519725	991
1624	1569699	1571144	519679	518234	1562
1625	1570858	1571220	518520	518158	266
1626	1571217	1572563	518161	516815	1561
1627	1572612	1573637	516766	515741	1560
1628	1573641	1573748	515737	515630	1559
1629	1573710	1575680	515668	513698	992
1630	1575753	1577099	513625	512279	993
1631	1577138	1578040	512240	511338	623
1632	1578037	1579284	511341	510094	267
1633	1579294	1582596	510084	506782	268
1634	1582707	1583825	506671	505553	994
1635	1583858	1584259	505520	505119	624
1636	1584289	1585641	505089	503737	269
1637	1585646	1586575	503732	502803	1900
1638	1586361	1588547	503017	500831	995
1639	1588597	1588962	500781	500416	270
1640	1588919	1590214	500459	499164	625
1641	1590298	1591578	499080	497800	271
1642	1591902	1592372	497476	497006	1558

1643	1592769	1593515	496609	495863	996
1644	1593682	1594884	495696	494494	1189
1645	1595017	1595325	494361	494053	272
1646	1596465	1597058	492913	492320	1557
1647	1597751	1598509	491627	490869	1899
1648	1598676	1599902	490702	489476	997
1649	1599886	1600935	489492	488443	273
1650	1601220	1601777	488158	487601	998
1651	1603727	1603786	485651	485592	626
1652	1604088	1604264	485290	485114	1556
1653	1604708	1606048	484670	483330	627
1654	1606039	1606902	483339	482476	1188
1655	1606912	1607685	482466	481693	1187
1656	1607663	1607971	481715	481407	1898
1657	1608213	1609220	481165	480158	1555
1658	1609231	1610190	480147	479188	1186
1659	1610202	1611623	479176	477755	1554
1660	1611635	1612684	477743	476694	1897
1661	1612865	1615312	476513	474066	1896
1662	1615653	1616882	473725	472496	999
1663	1616860	1617561	472518	471817	274

1664	1617558	1618517	471820	470861	1000
1665	1617756	1617815	471622	471563	1553
1666	1618578	1619276	470800	470102	1001
1667	1619263	1621227	470115	468151	1185
1668	1621305	1621934	468073	467444	1552
1669	1622735	1622920	466643	466458	628
1670	1622922	1624112	466456	465266	1002
1671	1624133	1625287	465245	464091	629
1672	1625321	1625563	464057	463815	630
1673	1625628	1625717	463750	463661	1003
1674	1625816	1625929	463562	463449	631
1675	1625919	1626824	463459	462554	1551
1676	1627009	1627614	462369	461764	1184
1677	1627793	1629337	461585	460041	632
1678	1629435	1630595	459943	458783	1004
1679	1630596	1631720	458782	457658	1005
1680	1630637	1630705	458741	458673	1895
1681	1631799	1633073	457579	456305	1006
1682	1633129	1633257	456249	456121	275
1683	1634125	1634739	455253	454639	276
1684	1634253	1634369	455125	455009	1550
1685	1634744	1635046	454634	454332	633
1686	1635049	1636365	454329	453013	1183
1687	1636376	1637356	453002	452022	634

1688	1637336	1638673	452042	450705	1894
1689	1638670	1639755	450708	449623	1182
1690	1639752	1640816	449626	448562	1549
1691	1640937	1641557	448441	447821	1548
1692	1641581	1643545	447797	445833	1893
1693	1643712	1644038	445666	445340	1007
1694	1644035	1644664	445343	444714	1892
1695	1644711	1645832	444667	443546	1008
1696	1645842	1646195	443536	443183	1009
1697	1646550	1647749	442828	441629	1010
1698	1651192	1652691	438186	436687	1181
1699	1652842	1653462	436536	435916	277
1700	1653443	1654624	435935	434754	635
1701	1654676	1655512	434702	433866	636
1702	1655924	1656976	433454	432402	1891
1703	1657257	1658210	432121	431168	1547
1704	1658633	1658857	430745	430521	1890
1705	1659540	1660034	429838	429344	1011
1706	1660137	1660616	429241	428762	1012
1707	1660605	1661033	428773	428345	1546
1708	1661293	1661439	428085	427939	278
1709	1661519	1662583	427859	426795	1889
1710	1662585	1666019	426793	423359	1545
1711	1666185	1666505	423193	422873	1544
1712	1667046	1668500	422332	420878	1543
1713	1668573	1668914	420805	420464	1013
1714	1668871	1669944	420507	419434	279
1715	1669941	1671896	419437	417482	1542
1716	1671856	1672545	417522	416833	1180
1717	1672642	1672686	416736	416692	1179
1718	1672713	1673096	416665	416282	1541

1719	1673965	1674999	415413	414379	1178
1720	1675448	1676545	413930	412833	637
1721	1676630	1677790	412748	411588	638
1722	1677812	1678636	411566	410742	639
1723	1678705	1679553	410673	409825	280
1724	1679540	1680370	409838	409008	640
1725	1680367	1681128	409011	408250	281
1726	1681383	1681730	407995	407648	1014
1727	1681740	1682333	407638	407045	1015
1728	1682428	1682817	406950	406561	282
1729	1682818	1683495	406560	405883	1177
1730	1683568	1684578	405810	404800	1176
1731	1684439	1684564	404939	404814	641
1732	1685535	1686689	403843	402689	1540
1733	1686869	1687045	402509	402333	642
1734	1687089	1687931	402289	401447	1016
1735	1687932	1689299	401446	400079	1539
1736	1689399	1690175	399979	399203	1017
1737	1691003	1692442	398375	396936	1888
1738	1692515	1693180	396863	396198	643
1739	1693184	1693489	396194	395889	644
1740	1693499	1694056	395879	395322	645
1741	1694157	1695629	395221	393749	1018
1742	1695642	1696265	393736	393113	1538
1743	1696275	1697726	393103	391652	1537

1744	1697807	1698145	391571	391233	646
1745	1699092	1699178	390286	390200	1019
1746	1699622	1700173	389756	389205	1887
1747	1700210	1701493	389168	387885	1886
1748	1703531	1704163	385847	385215	647
1749	1704224	1704970	385154	384408	1885
1750	1704989	1705141	384389	384237	1884
1751	1705367	1706314	384011	383064	1883
1752	1706139	1706984	383239	382394	1020
1753	1706986	1707378	382392	382000	283
1754	1707375	1708133	382003	381245	1536
1755	1708168	1710714	381210	378664	1175
1756	1710855	1711487	378523	377891	1535
1757	1712778	1714040	376600	375338	1021
1758	1714040	1716247	375338	373131	648
1759	1716248	1721644	373130	367734	649
1760	1721669	1722406	367709	366972	650
1761	1722894	1723436	366484	365942	1022
1762	1725222	1725860	364156	363518	1023
1763	1725857	1726705	363521	362673	1882
1764	1727964	1729022	361414	360356	1024
1765	1729029	1729787	360349	359591	1025
1766	1729784	1730227	359594	359151	651
1767	1730270	1731955	359108	357423	652
1768	1731945	1732280	357433	357098	1534
1769	1732332	1732982	357046	356396	1533
1770	1732998	1733120	356380	356258	1532

1771	1733473	1734267	355905	355111	284
1772	1734255	1735046	355123	354332	1531
1773	1735212	1735793	354166	353585	1026
1774	1736419	1736520	352959	352858	285
1775	1736456	1736896	352922	352482	653
1776	1736893	1737423	352485	351955	1174
1777	1737620	1738414	351758	350964	1881
1778	1738777	1739505	350601	349873	1173
1779	1739502	1739852	349876	349526	1530
1780	1739935	1740549	349443	348829	1172
1781	1740792	1741826	348586	347552	1027
1782	1741926	1743704	347452	345674	1028
1783	1743694	1743957	345684	345421	1171
1784	1743938	1744243	345440	345135	1880
1785	1744245	1745591	345133	343787	1529
1786	1745650	1746300	343728	343078	286
1787	1746894	1747268	342484	342110	1029
1788	1747308	1748660	342070	340718	1030
1789	1749755	1749931	339623	339447	1879
1790	1749900	1749992	339478	339386	1031
1791	1750416	1751543	338962	337835	1528
1792	1751717	1752793	337661	336585	1878
1793	1752795	1753493	336583	335885	1527
1794	1753468	1755291	335910	334087	1170

1795	1755444	1756100	333934	333278	1526
1796	1756133	1756924	333245	332454	1877
1797	1757029	1757460	332349	331918	1169
1798	1757494	1758735	331884	330643	1168
1799	1758870	1758998	330508	330380	1525
1800	1760394	1760735	328984	328643	1032
1801	1762166	1762558	327212	326820	1876
1802	1762676	1762846	326702	326532	654
1803	1762843	1763493	326535	325885	1167
1804	1763590	1764141	325788	325237	287
1805	1764136	1764609	325242	324769	1166
1806	1764704	1765804	324674	323574	655
1807	1765840	1766682	323538	322696	288
1808	1766679	1767068	322699	322310	1033
1809	1767079	1767885	322299	321493	1165
1810	1767919	1768269	321459	321109	1164
1811	1768271	1769350	321107	320028	1875
1812	1769469	1770143	319909	319235	1524
1813	1770892	1772169	318486	317209	289
1814	1772144	1772719	317234	316659	1874
1815	1772653	1773303	316725	316075	1163
1816	1773571	1774485	315807	314893	1162
1817	1774489	1775145	314889	314233	1161
1818	1775139	1776068	314239	313310	1523
1819	1776073	1776540	313305	312838	1160
1820	1776586	1777293	312792	312085	290

1821	1777281	1777811	312097	311567	1034
1822	1777799	1778830	311579	310548	656
1823	1779069	1779554	310309	309824	1035
1824	1779558	1779923	309820	309455	1522
1825	1779979	1781619	309399	307759	1159
1826	1781597	1782928	307781	306450	657
1827	1782866	1783828	306512	305550	1873
1828	1784010	1784594	305368	304784	1036
1829	1784774	1784953	304604	304425	658
1830	1784955	1786151	304423	303227	1037
1831	1786148	1787092	303230	302286	659
1832	1787147	1787473	302231	301905	660
1833	1787485	1788669	301893	300709	291
1834	1788671	1789675	300707	299703	661
1835	1789714	1790697	299664	298681	292
1836	1790705	1791568	298673	297810	662
1837	1791624	1791959	297754	297419	1038
1838	1791963	1792769	297415	296609	1039

1839	1792792	1793328	296586	296050	293
1840	1793325	1794524	296053	294854	1521
1841	1794521	1794823	294857	294555	1872
1842	1794964	1796124	294414	293254	294
1843	1796129	1797154	293249	292224	1871
1844	1797235	1797561	292143	291817	1158
1845	1797561	1797665	291817	291713	1520
1846	1797874	1798116	291504	291262	1157
1847	1798158	1800545	291220	288833	1519
1848	1800686	1801306	288692	288072	1870
1849	1801592	1802125	287786	287253	663
1850	1802245	1803363	287133	286015	1156
1851	1803363	1803602	286015	285776	1518
1852	1803666	1804280	285712	285098	1040
1853	1804317	1804535	285061	284843	1517
1854	1804571	1805047	284807	284331	1869
1855	1805521	1805853	283857	283525	1155
1856	1805911	1806657	283467	282721	1154
1857	1806654	1807073	282724	282305	1516
1858	1807161	1808084	282217	281294	1041
1859	1808249	1808404	281129	280974	664
1860	1808394	1808819	280984	280559	1515
1861	1808985	1811618	280393	277760	1042
1862	1811744	1812487	277634	276891	665
1863	1812518	1813510	276860	275868	1868
1864	1813353	1813550	276025	275828	1043
1865	1813638	1814054	275740	275324	1514
1866	1814141	1814644	275237	274734	1867
1867	1814559	1814648	274819	274730	1044

1868	1814829	1815962	274549	273416	1045
1869	1815959	1817002	273419	272376	666
1870	1816999	1817745	272379	271633	295
1871	1817756	1818715	271622	270663	667
1872	1819570	1819776	269808	269602	1153
1873	1820187	1820936	269191	268442	1513
1874	1820961	1821659	268417	267719	1512
1875	1821659	1821841	267719	267537	1866
1876	1822105	1823073	267273	266305	296
1877	1823702	1823782	265676	265596	1865
1878	1823857	1824675	265521	264703	297
1879	1824662	1825624	264716	263754	1864
1880	1825648	1826151	263730	263227	298
1881	1826226	1826504	263152	262874	1511
1882	1826572	1826886	262806	262492	299
1883	1826859	1827470	262519	261908	1046
1884	1827563	1828408	261815	260970	1863
1885	1828493	1829698	260885	259680	668
1886	1829731	1830558	259647	258820	300
1887	1830621	1831115	258757	258263	1510
1888	1831076	1831645	258302	257733	1862
1889	1831699	1832772	257679	256606	301
1890	1832777	1833709	256601	255669	669
1891	1833706	1834158	255672	255220	1152
1892	1834155	1834856	255223	254522	1509

1893	1834992	1835603	254386	253775	1047
1894	1835581	1836201	253797	253177	302
1895	1836239	1837111	253139	252267	670
1896	1837108	1838508	252270	250870	1151
1897	1838515	1839846	250863	249532	1150
1898	1839843	1842821	249535	246557	1508
1899	1842996	1844864	246382	244514	1507
1900	1844947	1845273	244431	244105	303
1901	1845241	1845942	244137	243436	1149
1902	1845932	1846168	243446	243210	671
1903	1846267	1847184	243111	242194	1148
1904	1847191	1848111	242187	241267	1147
1905	1848117	1849664	241261	239714	1506
1906	1853437	1853742	235941	235636	1146
1907	1853826	1853894	235552	235484	1048
1908	1853933	1854607	235445	234771	1861
1909	1854612	1855832	234766	233546	1505
1910	1855928	1857586	233450	231792	1860
1911	1857656	1858012	231722	231366	672
1912	1858017	1859300	231361	230078	1504
1913	1859380	1859607	229998	229771	1145
1914	1859695	1860141	229683	229237	1144
1915	1860556	1860741	228822	228637	1143
1916	1860814	1862100	228564	227278	1142
1917	1862097	1862900	227281	226478	1503

1918	1862902	1863786	226476	225592	1141
1919	1863783	1864895	225595	224483	1502
1920	1865656	1866711	223722	222667	304
1921	1866693	1867223	222685	222155	1049
1922	1867473	1868666	221905	220712	1050
1923	1868696	1869637	220682	219741	673
1924	1869643	1870143	219735	219235	305
1925	1870833	1871861	218545	217517	1051
1926	1872015	1872557	217363	216821	1052
1927	1872533	1872811	216845	216567	674
1928	1872808	1873179	216570	216199	306
1929	1873176	1873442	216202	215936	1053
1930	1873439	1873735	215939	215643	675
1931	1873732	1874181	215646	215197	307
1932	1874169	1874537	215209	214841	1054
1933	1874534	1876078	214844	213300	676
1934	1876071	1876427	213307	212951	1055
1935	1876465	1876995	212913	212383	308
1936	1876992	1877561	212386	211817	1056
1937	1877558	1878838	211820	210540	677
1938	1878843	1879835	210535	209543	1057
1939	1879832	1880263	209546	209115	678
1940	1880264	1880797	209114	208581	1859
1941	1880784	1881278	208594	208100	1501
1942	1881271	1881759	208107	207619	1140

1943	1881790	1882272	207588	207106	1139
1944	1882334	1883542	207044	205836	679
1945	1883543	1884076	205835	205302	680
1946	1884157	1885149	205221	204229	309
1947	1885281	1886627	204097	202751	1058
1948	1886671	1887270	202707	202108	310
1949	1887267	1887560	202111	201818	1500
1950	1887544	1888218	201834	201160	1138
1951	1888724	1890025	200654	199353	681
1952	1890006	1890557	199372	198821	1499
1953	1890634	1894026	198744	195352	311
1954	1894318	1894365	195060	195013	312
1955	1894442	1895158	194936	194220	682
1956	1895222	1895692	194156	193686	1858
1957	1895730	1896284	193648	193094	1498
1958	1896330	1896818	193048	192560	1497
1959	1896886	1897806	192492	191572	313
1960	1897803	1898744	191575	190634	1496
1961	1898830	1899255	190548	190123	1137
1962	1899309	1900178	190069	189200	1059
1963	1900171	1900881	189207	188497	1136
1964	1901205	1901720	188173	187658	1495
1965	1901783	1902706	187595	186672	683
1966	1902746	1903273	186632	186105	684
1967	1903277	1904434	186101	184944	685
1968	1904431	1905462	184947	183916	314
1969	1905501	1906337	183877	183041	1060

1970	1906334	1907098	183044	182280	1857
1971	1907089	1908066	182289	181312	1135
1972	1908127	1909461	181251	179917	1134
1973	1909517	1910014	179861	179364	686
1974	1910023	1910727	179355	178651	315
1975	1912010	1912546	177368	176832	687
1976	1912651	1912902	176727	176476	316
1977	1912921	1913589	176457	175789	1133
1978	1913472	1914050	175906	175328	1494
1979	1914387	1914812	174991	174566	1493
1980	1914882	1916204	174496	173174	1492
1981	1916252	1916479	173126	172899	688
1982	1916521	1917351	172857	172027	317
1983	1917310	1917879	172068	171499	1132
1984	1918215	1918709	171163	170669	1061
1985	1918693	1920390	170685	168988	1131
1986	1920429	1921331	168949	168047	1491
1987	1921407	1923065	167971	166313	1490
1988	1923377	1923970	166001	165408	1856
1989	1923967	1924317	165411	165061	1130
1990	1924478	1926250	164900	163128	689
1991	1926252	1926566	163126	162812	1062
1992	1926707	1929025	162671	160353	690
1993	1929037	1930491	160341	158887	1129
1994	1930573	1930920	158805	158458	318
1995	1930917	1931588	158461	157790	1063
1996	1931535	1932002	157843	157376	1489

1997	1932193	1932927	157185	156451	319
1998	1932928	1933236	156450	156142	1128
1999	1933306	1933578	156072	155800	320
2000	1933671	1934051	155707	155327	1064
2001	1934029	1935735	155349	153643	1127
2002	1935745	1936650	153633	152728	1126
2003	1936888	1937835	152490	151543	1125
2004	1937965	1939305	151413	150073	1124
2005	1941378	1941863	148000	147515	1065
2006	1942184	1942507	147194	146871	691
2007	1942618	1944576	146760	144802	1123
2008	1944729	1945865	144649	143513	1488
2009	1945993	1946349	143385	143029	1122
2010	1947328	1948446	142050	140932	321
2011	1948368	1949834	141010	139544	1066
2012	1949788	1951875	139590	137503	1121
2013	1951825	1953192	137553	136186	322
2014	1953189	1954478	136189	134900	1067
2015	1954540	1955208	134838	134170	323
2016	1955253	1957394	134125	131984	1068
2017	1957397	1958206	131981	131172	1855
2018	1958454	1958975	130924	130403	1487

2019	1959384	1959980	129994	129398	1486
2020	1959997	1960209	129381	129169	1120
2021	1961911	1965690	127467	123688	1119
2022	1962226	1962360	127152	127018	324
2023	1964567	1964629	124811	124749	692
2024	1965873	1966658	123505	122720	1069
2025	1966899	1969403	122479	119975	1070
2026	1969396	1970652	119982	118726	325
2027	1970804	1971262	118574	118116	693
2028	1971328	1971672	118050	117706	326
2029	1971682	1972395	117696	116983	327
2030	1972493	1973851	116885	115527	694
2031	1974299	1975357	115079	114021	1854
2032	1975695	1977017	113683	112361	1071
2033	1976971	1977399	112407	111979	1118
2034	1977396	1977704	111982	111674	1485
2035	1977819	1978400	111559	110978	1484
2036	1978397	1978993	110981	110385	1853
2037	1978966	1979769	110412	109609	1117
2038	1979866	1980489	109512	108889	328
2039	1980484	1980942	108894	108436	1116
2040	1980946	1981878	108432	107500	1115
2041	1981986	1982897	107392	106481	1072
2042	1982894	1983307	106484	106071	695
2043	1983573	1984325	105805	105053	1483
2044	1984369	1985724	105009	103654	1114

2045	1985942	1987522	103436	101856	696
2046	1987535	1988848	101843	100530	1852
2047	1988883	1989671	100495	99707	1482
2048	1989712	1990701	99666	98677	1113
2049	1991043	1992029	98335	97349	1481
2050	1992178	1993323	97200	96055	1112
2051	1993320	1993928	96058	95450	1480
2052	1993956	1994684	95422	94694	1479
2053	1994681	1995694	94697	93684	1851
2054	1995731	1997062	93647	92316	1850
2055	1997062	1999713	92316	89665	1111
2056	1999710	2001092	89668	88286	1478
2057	2001233	2003020	88145	86358	1849
2058	2003136	2003711	86242	85667	1073
2059	2003696	2004217	85682	85161	697
2060	2004220	2004576	85158	84802	1110
2061	2004890	2004943	84488	84435	698
2062	2005188	2006615	84190	82763	1477
2063	2006536	2009136	82842	80242	329
2064	2009133	2010641	80245	78737	1074
2065	2010697	2012013	78681	77365	330
2066	2012072	2012314	77306	77064	699
2067	2012311	2012514	77067	76864	1109
2068	2012712	2013572	76666	75806	1476
2069	2013609	2014661	75769	74717	1475
2070	2014525	2015568	74853	73810	1108
2071	2015632	2016564	73746	72814	1107
2072	2016684	2017421	72694	71957	1075
2073	2017378	2018802	72000	70576	331

2074	2019182	2019406	70196	69972	1848
2075	2019763	2020425	69615	68953	1106
2076	2020435	2021076	68943	68302	1105
2077	2021157	2021522	68221	67856	1076
2078	2021495	2022214	67883	67164	700
2079	2022269	2023111	67109	66267	701
2080	2025340	2025417	64038	63961	332
2081	2028631	2028912	60747	60466	333
2082	2028914	2029489	60464	59889	702
2083	2029483	2030094	59895	59284	1104
2084	2030142	2031023	59236	58355	1474
2085	2031138	2032727	58240	56651	1077
2086	2032734	2033420	56644	55958	1473
2087	2033501	2034466	55877	54912	703
2088	2034330	2035610	55048	53768	1078
2089	2035637	2036254	53741	53124	704
2090	2036331	2036594	53047	52784	1079
2091	2036609	2037244	52769	52134	705
2092	2037290	2038219	52088	51159	706
2093	2038219	2039394	51159	49984	334
2094	2039429	2040040	49949	49338	707
2095	2039994	2040326	49384	49052	1080
2096	2040316	2040816	49062	48562	1103
2097	2040797	2041732	48581	47646	1847
2098	2043010	2044203	46368	45175	1102
2099	2044340	2045170	45038	44208	708

2100	2045127	2046032	44251	43346	1472
2101	2046077	2047399	43301	41979	709
2102	2047406	2047780	41972	41598	710
2103	2047777	2048313	41601	41065	1101
2104	2048320	2049099	41058	40279	1100
2105	2049106	2049471	40272	39907	1099
2106	2050697	2051614	38681	37764	711
2107	2051664	2051900	37714	37478	1081
2108	2051888	2052298	37490	37080	712
2109	2052295	2053014	37083	36364	335
2110	2053125	2053190	36253	36188	1082
2111	2055992	2057146	33386	32232	1846
2112	2057204	2057467	32174	31911	1845
2113	2057477	2058655	31901	30723	1844
2114	2058742	2059149	30636	30229	1098
2115	2059310	2059501	30068	29877	713
2116	2059560	2060801	29818	28577	1083
2117	2060819	2061598	28559	27780	714
2118	2061501	2061911	27877	27467	1084
2119	2061997	2062446	27381	26932	1097
2120	2062448	2062966	26930	26412	1843
2121	2062966	2063607	26412	25771	1096
2122	2063612	2064214	25766	25164	1842
2123	2064280	2065428	25098	23950	1095
2124	2065471	2066778	23907	22600	1094

2125	2066863	2067558	22515	21820	336
2126	2067623	2068384	21755	20994	715
2127	2068384	2069838	20994	19540	337
2128	2069828	2070184	19550	19194	1841
2129	2070189	2070728	19189	18650	1471
2130	2070778	2071599	18600	17779	1093
2131	2071722	2072069	17656	17309	1085
2132	2072066	2072986	17312	16392	716
2133	2073002	2073490	16376	15888	717
2134	2073534	2073737	15844	15641	1470
2135	2074012	2075424	15366	13954	338
2136	2075557	2076162	13821	13216	339
2137	2076199	2076411	13179	12967	1092
2138	2076528	2076959	12850	12419	1086
2139	2076986	2077663	12392	11715	718
2140	2077703	2078152	11675	11226	719
2141	2078164	2078964	11214	10414	1091
2142	2079001	2080026	10377	9352	1090
2143	2080319	2082169	9059	7209	720
2144	2082376	2082897	7002	6481	340
2145	2082919	2083284	6459	6094	1089
2146	2083288	2084007	6090	5371	1088
2147	2084057	2085316	5321	4062	1840
2148	2085470	2087110	3908	2268	721
2149	2087216	2088568	2162	810	1839
2150	2088670	2088921	708	457	341
2151	2088905	2089378	473	0	722

における遺伝子番号（１）～（２１５１）の配列からなる群より選択される。

１つの実施形態では、このような領域は、遺伝子番号（１）～（２１５１）空なる群より選択される。

ここで、上記表中、翻訳されたアミノ酸配列は、通常メチオニンで始まり「アミノ酸配列番号Ｙ（配列番号２～３４１、３４３～７２２、７２４～１０８６、１０８８～１４６８、１４７０～１８３７および１８３９～２１５７）」として同定されるが、他のリーディングフレームもまた、公知の分子生物学技術を使用して容易に翻訳され得る。別のオープンリーディングフレームによって生成されるポリペプチドもまた、本発明の範囲内に入ることが企図される。

- 10 本明細書において開示された配列の正確さは十分であり、当該分野において周知の種々の用途および以下でさらに記載される種々の用途に適切である。例えば、配列番号１のオープンリーディングフレーム領域の配列は、そのオープンリーディングフレームにおいて含まれる核酸配列に含まれるｃＤＮＡを検出する核酸ハイブリダイゼーションプローブを設計するために有用である。これら
- 15 らのプローブはまた、生物学的サンプル中の核酸分子にハイブリダイズし、それによって本発明の種々の法医学的方法、および診断方法を可能にする。同様に、配列番号Ｚから同定されるポリペプチドは、例えば、本明細書において同定されるオープンリーディングフレームによってコードされるタンパク質（ポリペプチドおよび分泌タンパク質を含む）に特異的に結合する抗体を作製する
- 20 ために使用され得る。

本発明者らは、配列決定に際して細心の注意を払って分析を行った。しかし、配列決定反応によって生成されるＤＮＡ配列は、配列決定の誤差を含み得る。

この誤差は、誤って同定されたヌクレオチドとして、または生成されたＤＮＡ配列におけるヌクレオチドの挿入もしくは欠失として存在する。誤って挿入されたか、または欠失されたヌクレオチドは、推定アミノ酸配列のリーディング

25 フレームにおいてフレームシフトを引き起こす。これらの場合において、作製

されるDNA配列が、実際のDNA配列と99.9%（例えば、1000塩基を超えるオープンリーディングフレームにおける1塩基の挿入または欠失）を超えて同一であり得るとしても、推定アミノ酸配列は、実際のアミノ酸配列とは異なる。

5 従って、ヌクレオチド配列またはアミノ酸配列における正確さを必要とするこれらの適用のために、本発明は、配列番号1のヌクレオチド配列、および配列番号2として同定される翻訳されたアミノ酸配列のみならず、特許生物寄託センターに寄託された本発明の*Thermococcus kodakaraensis* KOD1のゲノム中に含まれる核酸配列およびそれによってコードされるアミノ酸配列もまた提供する。当業者は、そのようなより正確な配列を寄託された本発明の*Thermococcus kodakaraensis* KOD1の配列を配列決定することによって判定することができる。本発明においてまた提供されるものは、対立遺伝子変異体、オルソログ、および／または種ホモログである。

15 別の局面において、本発明は、配列番号1または1087に示される配列を有する、核酸分子自体を提供する。この核酸分子自体は、本発明の遺伝子ターゲティング破壊方法において有用である。

本発明はまた、別の局面において、配列番号1または1087に示される配列の少なくとも8の連続する核酸配列を含む、核酸分子を提供する。

20 本明細書において用語「プローブ」とは、可変の長さの核酸配列であって、ある特定の配列を探索するために使用されるものをいう。プローブは、好ましくは、用途に依存するが、少なくとも約8ヌクレオチド、少なくとも約10ヌクレオチド、少なくとも約15ヌクレオチド、少なくとも約20ヌクレオチド、少なくとも約30ヌクレオチド、少なくとも約40ヌクレオチド、少なくとも約50ヌクレオチド、約100ヌクレオチドであってもよく、または約6,000ヌクレオチドであってもよい。プローブは、同一、類似または相補的な核

25

酸配列の検出において使用される。より長いプローブは、通常、天然供給源または組換え供給源から入手され、非常に特異的であり、オリゴマーよりもはるかに遅くハイブリダイズする。プローブは、一本鎖または二本鎖であり得、そしてPCR、メンブレンベースのハイブリダイゼーション技術またはELISA

5 Aのような技術において特異性を有するように設計される。

本明細書において用語「プライマー」とは、可変の長さの核酸配列であって、PCRなどの核酸の合成反応にあたりポリヌクレオチド鎖がのびていく出発点として働くポリヌクレオチドをいう。プライマーは、好ましくは、用途に依存するが、少なくとも約6ヌクレオチド、少なくとも約7ヌクレオチド、少なくとも約8ヌクレオチド、少なくとも約9ヌクレオチド、少なくとも約10ヌクレオチド、少なくとも約15ヌクレオチド、少なくとも約17ヌクレオチド、少なくとも約20ヌクレオチド、少なくとも約30ヌクレオチド、少なくとも約40ヌクレオチド、少なくとも約50ヌクレオチド、約100ヌクレオチドであつてもよく、または約6,000ヌクレオチドであつてもよい。

10

1つの局面において、本発明は、上述の表1に記載される遺伝子番号(1)～(2151)のいずれかのアミノ酸配列(配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837および1839～2157)を有するポリペプチドを提供する。本発明のポリペプチドは、好ましくは、他のタンパク質に融合される。これらの融合タンパク質は、種々の適用に使用され得る。例えば、本発明のポリペプチドの、Hisタグ、HAタグ、プロテインA、IgGドメイン、およびマルトース結合タンパク質への融合は、精製を容易にする(EP A 394,827もまた参照のこと; Trauneckerら、Nature、331:84-86(1988))。

15

20

別の局面において、本発明は、上述の表1に記載される遺伝子番号(1)～(2151)のいずれかのアミノ酸配列(配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837および18

25

39~2157)の少なくとも3アミノ酸配列を含むペプチド分子を提供する。そのようなペプチド分子は、エピトープとして使用され得る。好ましくは、そのようなペプチド分子は、少なくとも約4アミノ酸配列、少なくとも約5アミノ酸配列、少なくとも約6アミノ酸配列、少なくとも約7アミノ酸配列、少なくとも約8アミノ酸配列、少なくとも約9アミノ酸配列、少なくとも約10アミノ酸配列、少なくとも約15アミノ酸配列、少なくとも約20アミノ酸配列、少なくとも約30アミノ酸配列、少なくとも約40アミノ酸配列、少なくとも約50アミノ酸配列、少なくとも約100アミノ酸配列を含み得る。より長いほうが特異性が高い。

用語「エピトープ」とは、本明細書中で使用される場合、動物において、好ましくは哺乳動物において、そして最も好ましくはヒトにおいて抗原性活性または免疫原性活性を有するポリペプチドの部分を用いる。好ましい実施形態において、本発明は、エピトープを含むポリペプチド、およびこのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。「免疫原性エピトープ」とは、本明細書中で使用される場合、当該分野で公知の任意の方法によって決定されるような（例えば、下記に記載される抗体を産生するための方法による）、動物における抗体応答を誘発するタンパク質の一部として定義される（例えば、Geysenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002 (1983)を参照のこと）。用語「抗原性エピトープ」とは、本明細書中で使用される場合、当該分野で周知の任意の方法（例えば、本明細書中に記載される免疫アッセイによる）によって決定されるような、抗体がその抗原に免疫特異的に結合し得るタンパク質の一部として定義される。免疫特異的結合は、非特異的結合は除外するが、他の抗原との交差反応を除外する必要はない。抗原性エピトープは、免疫原性である必要はない。

エピトープとして機能するフラグメントは、任意の従来の方法によって産生され得る。（例えば、Houghten, Proc. Natl. Acad. Sc

i. USA 82:5131-5135 (1985) を参照のこと。これはさらに、米国特許第4,631,211号に記載される)。

本発明においては、抗原性エピトープは、通常3アミノ酸、好ましくは、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7アミノ酸配列を含み、
5 より好ましくは、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50アミノ酸配列を含み、そして最も好ましくは約15アミノ酸と約30アミノ酸との間の配列を含む。免疫原性エピトープまたは抗原性エピトープを
10 含有する好ましいポリペプチドは、少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95または100アミノ酸残基の長さである。さらなる非排他的に好ましい抗原性エピトープは、本明細書中で開示される抗原性エピトープおよびその一部を含む。抗原性エピトープは、有用である（例えば、エピトープに特異的に結
15 合する抗体（モノクローナル抗体を含む）を惹起するため）。好ましい抗原性エピトープは、本明細書中で開示される抗原性エピトープ、および2、3、4、5以上のこれらの抗原性エピトープの任意の組合わせを含む。抗原性エピトープは、イムノアッセイにおいて、標的分子として使用され得る。（例えば、Wilsonら、Cell 37:767-778 (1984); Sutcliffe
20 ーら、Science 219:660-666 (1983) を参照のこと）。

同様に、免疫原性のエピトープを使用して、例えば、当該分野で周知の方法に従って抗体を誘導し得る。（例えば、Sutcliffeら（前出）；Wilsonら（前出）；Chowら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:910-914；およびBittleら、J. Gen. Virol.
25 66:2347-2354 (1985) を参照のこと）。好ましい免疫原性エピトープは、本明細書で開示された免疫原性エピトープ、ならびにこれらの免疫

原性エピトープの2つ、3つ、4つ、5つ以上の任意の組み合わせを含む。1
つ以上の免疫原性エピトープを含むポリペプチドは、キャリアタンパク質（例
えば、アルブミン）とともに動物系（例えば、ウサギまたはマウス）に対する
抗体応答を惹起するために提示され得るか、または、そのポリペプチドが十分
5 に長い場合では（少なくとも約25アミノ酸）、このポリペプチドはキャリアな
しで提示され得る。しかし、8～10程度のわずかなアミノ酸を含む免疫原性
エピトープが、変性されたポリペプチドの直鎖エピトープに（少なくとも）結
合し得る抗体を惹起するのに十分であることが示された（例えば、ウエスタン
ブロッティングにおいて）。

10 本発明のエピトープ保有ポリペプチドは、当該分野で周知の方法に従って抗
体を誘導するために使用され得る。この方法としては、インビボ免疫、インビ
トロ免疫、およびファージディスプレイ法が挙げられるが、それらに限定され
ない。例えば、Sutcliffeら、前出；Wilsonら、前出；および
Bittleら、J. Gen. Virol., 66:2347-2354 (19
15 85)を参照のこと。インビボ免疫を使用する場合、動物を遊離ペプチドを用
いて免疫し得る；しかし、抗ペプチド抗体力価は、高分子キャリア（例えば、
キーホールリンペットヘモシアニン（hemacyanin）（KLH）または
破傷風トキソイド）にペプチドを結合させることによりブーストされ得る。例
えば、システイン残基を含むペプチドは、マレイミドベンゾイル-N-ヒドロ
20 キシスクシンイミドエステル（MBS）のようなリンカーを用いてキャリアに
結合され得る。その一方、他のペプチドは、より一般的な結合剤（例えば、グ
ルタルアルデヒド）を用いてキャリアに結合され得る。ウサギ、ラット、およ
びマウスのような動物は、遊離のペプチドまたはキャリア結合ペプチドのいず
れかを用いて、例えば、エマルジョン（約100 μ gのペプチドまたはキャリ
25 アタンパク質およびフロイントアジュバントまたは免疫応答を刺激すると知ら
れる任意の他のアジュバントを含む）の腹腔内注射および／または皮内注射に

より免疫される。いくつかのブースター注射が、抗ペプチド抗体の有用な力価を提供するために、例えば、約2週間の間隔で、必要とされ得る。この力価は、例えば、固体表面に吸着した遊離のペプチドを用いるELISAアッセイにより検出され得る。免疫した動物由来の血清中の抗ペプチド抗体の力価は、抗ペ
5 プチド抗体の選択（例えば、当該分野で周知の方法に従う固体支持体上のペプチドの吸着および選択された抗体の溶出による）により上昇し得る。

当業者に理解されるように、そして上記で考察されるように、免疫原性エピトープまたは抗原性エピトープを含む本発明のポリペプチドは、他のポリペプチド配列に融合され得る。例えば、本発明のポリペプチドは、免疫グロブリン
10 (IgA、IgE、IgG、IgM)の定常ドメインまたはそれらの部分(CH1、CH2、CH3、またはそれらの任意の組み合わせおよびそれらの部分)、あるいはアルブミン（組換えアルブミン（例えば、1999年3月2日発行の米国特許第5,876,969号、欧州特許第0413622号、および
15 1998年6月16日発行の米国特許第5,766,883号（これらは、本明細書によってその全体において参考として援用される）を参照のこと）を含むが、限定はされない）と融合され得、キメラポリペプチドを生じる。このような融合タンパク質は、精製を容易にし得、そしてインビボでの半減期を増大させ得る。これは、ヒトCD4-ポリペプチドの最初の2つのドメインおよび
20 哺乳動物の免疫グロブリンの重鎖または軽鎖の定常領域の種々のドメインからなるキメラタンパク質について示されている。例えば、EP394,827; Trauneckerら、Nature, 331:84~86(1988)を参照のこと。上皮の障壁を横切る抗原の免疫系への増強された送達は、IgGまたはFcフラグメントのようなFcRn結合パートナーへ結合された抗原（例えば、インシュリン）について実証された（例えば、PCT公開WO96
25 /22024および同WO99/04813を参照のこと）。IgG部分のジスルフィド結合に起因するジスルフィド結合二量体構造を有するIgG融合タン

パク質はまた、単量体ポリペプチドまたはそれらのフラグメント単独よりも、他の分子の結合および中和においてより効果的であることが見出された。例えば、Fountoulakisら、J. Biochem., 270:3958-3964 (1995) を参照のこと。上記のエピトープをコードする核酸はまた、
5 エピトープタグ（例えば、赤血球凝集素（「HA」）タグまたはフラッグ（flag）タグ）として目的の遺伝子と組換えられ、発現されたポリペプチドの検出および精製を補助し得る。例えば、Janknechtらによって記載される系は、ヒト細胞株中で発現される非変性融合タンパク質の容易な精製を可能にする（Janknecht ら、1991、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8972-8977）。この系において、目的の遺伝子はワクシニア組換えプラスミドへサブクローン化され、その結果、この遺伝子のオープンリーディングフレームが、6つのヒスチジン残基からなるアミノ
10 末端タグへ翻訳時に融合される。このタグは、融合タンパク質についての基質結合ドメインとしての機能を果たす。組換えワクシニアウイルスを用いて感染
15 された細胞からの抽出物は、 Ni^{2+} ニトリロ酢酸-アガロースカラム上へロードされ、そしてヒスチジンタグ化タンパク質は、イミダゾール含有緩衝液を用いて選択的に溶出され得る。

「単離された」核酸分子は、この核酸の天然の供給源中に存在するその他の核酸分子から分離されているものである。単離された核酸分子の例としては、
20 ベクター中に含まれる組換えDNA分子、異種宿主細胞中に維持される組換えDNA分子、部分的または実質的に精製された核酸分子、および合成DNAまたはRNA分子が挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは「単離された」核酸は、この核酸が由来する生物のゲノムDNA中でこの核酸に天然で隣接する配列（すなわち、この核酸の5'末端および3'末端に位置する配列）
25 がない。例えば、種々の実施形態で、単離されたNOVX核酸分子は、核酸が由来する細胞のゲノムDNA中の核酸分子に天然で隣接する、約50 kb、2

5 kb、5 kb、4 kb、3 kb、2 kb、1 kb、0.5 kb または 0.1 kb より少ないヌクレオチド配列を含み得る。さらに「単離された」核酸分子、例えば、cDNA分子は、組換え技法により産生されるとき、その他の細胞物質または培養培地を実質的に含まないか、または化学的に合成されるとき、化学物質前駆体もしくはその他の化学物質を実質的に含まないものであり得る。

別の局面において、本発明は、表1における遺伝子番号(1)～(2151) (配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列)の配列からなる群より選択される少なくとも1つの配列またはその配列と70%相同な配列あるいはその一部をコードする、核酸分子を提供する。

別の局面において、本発明は、表1における遺伝子番号(1)～(2151) (配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列)の配列からなる群より選択される少なくとも1つの配列またはその配列と70%相同な配列あるいはその一部を含む、ポリペプチドを提供する。

別の局面において、本発明は、表1における遺伝子番号(1)～(2151) (配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列)の配列からなる群より選択される少なくとも1つの配列またはその配列と70%相同な配列あるいはその一部を含む、エピトープを提供する。

別の局面において、耐熱性タンパク質をスクリーニングする方法を提供する。ここでこの方法は、1) 耐熱性生物のゲノムの全配列を提供する工程；2) 上記配列の任意の少なくとも1つの領域を選択する工程；3) 上記選択された領

域と相同な配列、および上記耐熱性タンパク質の候補をコードする遺伝子を含むベクターを提供する工程；4) 上記ベクターで上記生物を形質転換する工程；5) 上記耐熱性生物を相同的組換えが生じる条件下に配置する工程；6) 相同的組換えが起きた上記耐熱性生物を選択する工程；および7) 上記耐熱性タンパク質を同定するアッセイを行う工程、を包含する。ここで、ゲノムの全配列は、完全な配列でなくてもよいが、好ましくは完全な配列である。ここで、選択される領域は、好ましくは2つの領域またはそれを超える領域であり得る。領域の長さは相同的組換えが生じる限りどのような長さでもよく、例えば、少なくとも約500塩基、少なくとも約600塩基、少なくとも約700塩基、
10 少なくとも約800塩基、少なくとも約900塩基、少なくとも約1000塩基、少なくとも約2000塩基などであり得る。上述の耐熱性タンパク質の候補は、発現が予測される限り、本発明のどのようなタンパク質であってもよい。ベクターはそのタンパク質を発現させることができる限りどのようなベクターであってもよい。

- 15 ベクターには好ましくは、プロモーターのような遺伝子調節エレメントが含まれ得る。形質転換は適切な条件であればどのような条件であってもよい。

相同的組換えが生じる条件とは、相同的組換えが起きる条件であればどのような条件であってもよく、通常は、以下のような条件でよい。

Tk-pyrF欠損株No. 25、No. 27をASW-YT液体培地20mlで培養

- 20 ↓
1 サンプルにつき培養液3mlより集菌 (No. 25、No. 27各5サンプル)
↓
0.8×ASW+80mM CaCl₂ 200 μlに懸濁し、氷上で30min静置
↓
25 pUC118/DS、pUC118/DDを3 μg混合し、氷上で1h静置
(同一サンプルを2つずつ。ControlにはTE bufferを等量加えた)

↓

85℃、45sでheat shock

↓

氷上で10min静置

5 ↓

Ura—ASW-AA液体培地で前培養（持ち込みのウラシルにより増殖）

↓

Ura—ASW-AA液体培地で培養（PyrF+株を濃縮）

↓

10 Ura—ASW-AA固体培地で培養

という条件が挙げられるがそれらに限定されない。ここで、上記ASW（人工海水）の組成は以下のとおりである：1×人工海水（Artificial sea water (ASW)）（/L）：NaCl 20g；MgCl₂·6H₂O 3g；MgSO₄·7H₂O 6g；(NH₄)₂SO₄ 1g；NaHCO₃ 0.2g；CaCl₂·2H₂O 0.3g；KCl 0.5g；NaBr 0.05g；SrCl₂·6H₂O 0.02g；およびFe(NH₄) クエン酸 0.01g。

相同的組換えが起きた生物を選択する方法は、相同的組換えが起きた生物に特有のマーカを検出することによって行われ得る。従って、相同的組換えが起きた生物に発現されるようなマーカを上述のベクターに含ませることが好ましくあり得る。

20 耐熱性のタンパク質の同定は、そのタンパク質が通常活性を発揮すると考えられている条件において、温度のみを例えば、約50℃、好ましくは約60℃、より好ましくは約70℃、さらに好ましくは約80℃、もっとも好ましくは約90℃に上昇させた条件であっても、活性がみられることを確認することによって行うことができる。

25 別の局面において、本発明は、耐熱性タンパク質をスクリーニングするキットを提供する。このキットは、1) 耐熱性生物；ならびに2) 上記耐熱性生物

において選択されたある領域と相同な配列、および上記耐熱性タンパク質の候補をコードする遺伝子を含むベクター、を備える。

好ましい実施形態において、この耐熱性生物は、超好熱始原菌であり、より好ましくは *Thermococcus kodakaraensis* KOD 1 である。

好ましい実施形態において、本発明のキットは、3) 上記耐熱性タンパク質を同定するためのアッセイシステム、をさらに備える。このアッセイシステムは、その耐熱性タンパク質の活性によって変動する。

10 (各遺伝子の説明)

以下に、本発明において同定された *Thermococcus kodakaraensis* KOD 1 株のゲノム配列に含まれていた各遺伝子についての説明を付す。

15 (超好熱菌のゲノムの概論)

超好熱菌の染色体DNAは安定である。DNAの二本鎖は水素結合で維持されているため、高温環境では一本鎖に解離するのではないかという素朴な疑問が生じる。KOD 1 株には2種の塩基性ヒストン様タンパクが存在し、これが負に荷電しているDNAに結合することにより、ヌクレオソーム様複合体を形成してコンパクト化することにより安定化している。本発明によって、さらにポリアミンがこれに結合して安定化を促進していることもさらに明らかにできた。なおアセチル化されたポリアミン（アセチルポリアミン）はヌクレオソーム様複合体への結合能が弱いため、脱アセチル化酵素の働きにより得られたポリアミンがより強固に結合できるようになっている。一般的に超好熱菌の細胞内 K^+ イオン濃度は常温菌の場合よりはるかに高いので、二本鎖DNAの安定化にも貢献していることは間違いない。実際DNAの融解曲線を調べるとこれら

の特性が明らかに示されている。

(耐熱性についての普遍性)

本発明者はKOD1株の *glutamate dehydrogenase*
5 (GDH) の研究を通じて、超好熱菌由来タンパク質に普遍的な特性を発見した。すなわち、常温菌由来のタンパク質は一般に熱により変性するのに対し、超好熱菌由来の組換えタンパク質は熱により成熟していくことを明らかにした。KOD1株内の高温環境で合成されたGDHは6量体構造を有し、高い比活性を示す。一方、GDH遺伝子が大腸菌を宿主として発現させた場合では、天然
10 型のGDHと比べて酵素活性が低く、構造の異なる単量体タンパク質が得られた。そこで70℃、20分の熱処理を施すと組換え型GDHは比活性、立体構造ともに天然型のGDHに近づくことが明らかとなった。また、一度熱処理を行うことにより、本酵素は低温域でも天然型GDHと類似した挙動をした。このような特徴はGDHのみならず、本発明者らが解析した超好熱菌由来酵素の
15 全てについて認められた。以上のことから、耐熱性タンパク質の成熟化には熱が重要であり、それは熱による酵素タンパク質の不可逆な構造変換に起因することが判明した。

(新しい構造や機能特性を有する酵素の発見)

リブローズ1, 5 - ニリン酸カルボキシラーゼ (*Rubisco*) は全ての
20 植物・藻類・藍藻に存在し、二酸化炭素を有機物に固定する重要な役割を担っている。*Rubisco*は地球上で最も多量に存在する酵素であり、本酵素の改良は地球温暖化や食糧問題の解決に大きく貢献すると期待されている。いままですら原始生命体に近い始原菌は*Rubisco*を有しないと考えられてきたが、本発明者らはKOD1株内に高い炭酸固定能を有する*Rubisco*が存在す
25 ることを発見した。この酵素 (*Tk-Rubisco*) は従来の*Rubisco*と比較して20倍も高い活性を有し、二酸化炭素に対する特異性も極めて高

いことが判明した。Tk-Rubiscoは構造的にも新規であり、前例のない五角形型10量体構造をとっていた。現在は本酵素の生理的役割の解明とともに、植物などの光合成生物への導入を進めている。

5 (構造解析に基いた超好無菌由来タンパク質の耐熱性機構の解明)

超好熱菌由来タンパク質が示す高度な耐熱性は、タンパク質科学の基礎分野のみならず、酵素を利用する様々な応用分野から注目を集めている。本発明者らは多数のKOD1株由来酵素の立体構造を明らかにしており、それらの耐熱性機構を解明することができた。代表的な例としてO⁶-メチルグアニン-DNAメチルトランスフェラーゼ(Tk-MGMT)が挙げられる。Tk-MGMTとその大腸菌由来酵素(Adac)の立体構造を比較すると、Tk-MGMTには α -ヘリックスを安定化するヘリックス内イオン結合が多数存在することが判明した。また、タンパク質全体の構造を安定化するヘリックス間イオン結合も多く存在していた。大腸菌由来Adacにはこのようなイオン結合は少なく、超好熱菌由来酵素は多数のイオン結合やイオン結合ネットワークにより高度な耐熱性を発揮していることが判った。これは上述のGDHにおいても同様であり、生化学的にも証明することができた。すなわち、GDH内に存在するイオン結合ネットワークを壊すような部位特異的変異を導入した場合には、変異酵素の熱安定性が大きく低下した。逆にイオン結合を増加させた変異酵素の耐熱性は上昇した。

(有用酵素の利用)

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR法)は遺伝子操作技術にもはや不可欠な技術の1つとなっており、その応用は医療、環境、食糧など様々な分野に及んでいる。現在、PCR法に求められている改良点は増幅時間の短縮、誤増幅の防止、長いDNA断片の増幅である。特に臨床検査、食品検査では速く、正確にDN

Aを合成するDNAポリメラーゼが要求されている。本発明者らはKOD 1株のDNAポリメラーゼ（KOD DNAポリメラーゼ）の機能解析を行った結果、本酵素は従来酵素と比較してDNAの合成速度が速く、長いDNAを合成する能力も高いことを見いだした。実際、KOD 1株のDNAポリメラーゼを用いると、従来のTaq酵素で2時間かかっていたPCRの反応時間を約25分に短縮できた。また、KOD DNAポリメラーゼの3' → 5' エキソヌクレアーゼ活性を欠失させた改変型酵素と野生型酵素とを最適な割合で混合することにより、より優れた反応効率・伸長性を得ることができた。本発明者らはさらにKOD DNAポリメラーゼの抗体を用いることにより、PCR反応の初期に見られる誤増幅を抑え、極めて正確で効率の良いDNA増幅系を確立することができた。本システムは東洋紡績社から「KOD-Plus」システムとして上梓中であり、またLife Technologies/GIBCO O BRL社より「Platinum™ Pfx DNA polymerase」として欧米各国で販売されている。最近本発明者らはさらにKOD DNAポリメラーゼの結晶化・X線構造解析を行い、その立体構造を決定した。詳細な立体構造に基いて、本酵素の伸長反応の速さ、複製能力の正確さなどがあるどのような構造に起因するかを解明することができた。

本発明者らはDNAポリメラーゼ以外にも多数の有用耐熱性酵素を同定解析している。DNAリガーゼは2つのDNA断片の末端を結合させる反応を触媒し、本酵素も遺伝子組換え技術の中で不可欠な酵素である。従来から使用されている細菌やファージ由来酵素のほとんどが熱に弱く、不安定なものであるが、KOD 1株のDNAリガーゼ（Tk-Lig）は30℃から100℃において高いDNAリガーゼ活性を示した。さらにTk-Ligのニック部位における基質（base-pairing）特異性は興味深く、3'末端に対しては厳密な塩基対形成が必要であったが、5'末端に対しては基質特異性が甘いことが判明した。これらのような特徴をもつDNA ligaseは他に報告例は

なく、1塩基置換（SNPs）検出への本酵素の応用が期待される。糖質関連酵素としては、デンプンなどに見られる α （1-4）結合を切断する α -アミラーゼまたは環化反応を触媒してシクロデキストリンを合成するシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ、転移反応を触媒する4- α -グルカノトランスフェラーゼについて生化学的諸性質を明らかにしている。セルロースやキチンに見られる β （1-4）結合を切断する β -グルコシダーゼ、キチナーゼについても詳細な解析を行った。特にKOD 1株のキチナーゼには同一ポリペプチド鎖上に2つのキチナーゼ活性ドメインが存在し、1つがエンドキチナーゼ活性、もう片方がエキソキチナーゼ活性を有した。これら2つの触媒ドメインの相乗作用により本酵素は極めて高いキチン分解活性を示す。

（*Thermococcus kodakaraensis* KOD 1株のゲノム解析と遺伝子導入技術の開発）

本研究を通じて本発明者らはKOD 1株に関するほぼすべての遺伝子を解析し、かなりの種類のタンパク質の詳細な生化学的性質を明らかにしてきた。KOD 1株は生物の進化系統樹の根に近いところに位置する極めて単純化された生命体であり、生命の基本メカニズムを理解する上で、本菌は恰好の題材であると考えられる。また、KOD 1株は上述のように新しい特徴を有する酵素や応用可能な耐熱性酵素を多数生産している。このような背景のもと、本発明者らはKOD 1株の全ゲノム解析を進めることにした。KOD 1株のゲノムは2,076,138塩基対からなり、予想通り極めて短いものであった（大腸菌の40%以下）。また、遺伝子の数も少なく1500個程度であった。KOD 1株がこのような少ない数の遺伝子で生命を維持していることから、本菌の研究を通じて生命の基本原理の解明も実現可能と期待している。

ポストゲノム研究において最も重要な研究課題は機能未知遺伝子の生理的役割を解明することである。DNA chipによる網羅的遺伝子発現解析、p

roteomeによる網羅的タンパク質解析はこの目的のために有効な解析法である。本発明者らもこれらの手法を用いて研究を進めているが、最近、もう1つ重要なシステムの構築に成功した。すなわちKOD1株ゲノム上の任意の遺伝子を特異的に破壊する技術である。これにより機能未知遺伝子を破壊してその影響を解析することにより、その生理的役割を明らかにすることが可能となった。

KOD1のゲノムに含まれる遺伝子は、以下の表2に示されるように多岐にわたっている。そのような遺伝子の機能の説明は、当該分野で周知の生化学の文献（たとえば、Sambrook, J. et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA (2001); Ausubel, F. et al., Short protocols in molecular biology, 4th ed. John Wiley & Sons, NJ, USA (1999); Ausubel, F., et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NJ, USA (1988); 太田次郎編、生化学ハンドブック、朝倉書店 (1987); 今堀和友、山川民夫監修、生化学辞典第3版、東京化学同人 (1998); 西塚泰美編、細胞機能と代謝マップ、東京化学同人 (1997); Lewin Genes VII, Oxford University Press, Oxford, UK (2000) など）に記載されている。また、そのようなタンパク質の機能を測定する方法は、例えば、Sambrook, J. et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA (2001); Frank T.,

et al., Thermophiles (Archaea: A Laboratory Manual 3), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA (1995); 丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982); Methods in Enzymology シリーズ、Academic Press; 今堀和友、山川民夫監修、生化学辞典第3版、東京化学同人 (1998); 西塚泰美編、細胞機能と代謝マップ、東京化学同人 (1997); Lengeler, J. et al. Biology of the Prokaryotes, Blackwell Science, Oxford, UK (1998); Lewin Genes VII, Oxford University Press, Oxford, UK (2000) など) に記載されている。

このように、本発明のよってKOD1のゲノムに含まれる遺伝子はその機能がほぼ解明されたが、その機能を、以下の表にまとめる。表2に記載される領域(1)に規定される遺伝子(以下、遺伝子ID(1)とする(この遺伝子のアミノ酸配列は、表中の配列番号に示される配列番号に該当する配列である))。

表2 Thermococcus kodakaraensis KOD1のゲノムに含まれる遺伝子の説明

遺伝子番号	核酸番号(セン ス鎖、開 始)	核酸番号(セン ス鎖、終 結)	核酸番号(アン チセンス 鎖、開 始)	配列 番号 対応	読み 枠	既知遺 伝子と 相同性 の高い 部分の 開始核 酸番号	既知遺 伝子と 相同性 の高い 部分の 終結核 酸番号	アミ ノ酸 長	遺伝 子名	分類	英語による説明	日本語による説明	
1	1	5016	2089377	2084362	2	f-1	1	1216	702	PolB	L	DNA polymerase elongation subunit (family B) (homing endonuclease)	DNA ポリメラー ゼ延長サブユ ニット (ファミリ ー B)(ホーミン グエンドヌクレ アーゼ)
2	5134	5733	2084244	2083645	3	f-1	5134	5707	165	-	R	Predicted metal-dependent hydrolase	推定金属依存 性ヒドロラーゼ
3	6079	6543	2083299	2082835	1468	r-1	6424	6541	33	CarB	E F	Carbamoylphosph ate synthase large subunit	カルバモイルリ ン酸シンターゼ ラージサブユニ

												(split gene in MJ) COG0458 CarB	ット (MJ)における スプリット遺 伝子) COG0458 CarB
4	6586	7014	2082792	2082364	4	f-1	6586	7012	262	-	R	Predicted CoA-binding protein	推定CoA結合タ ンパク質
5	7152	7391	2082226	2081987	1837	r-2	7170	7338	30	-	R	Predicted ATPase or kinase	推定ATPアー ゼまたは キナ ーゼ
6	7399	7614	2081979	2081764	1467	r-1	7399	7549	29	RpoZ	K	DNA-directed RNA polymerase subunit K/omega	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼサブユニット K/ω
7	7655	8755	2081723	2080623	2157	r-3	7658	8726	470	-	L	Predicted DNA modification methylase	推定DNA 修飾 メチラーゼ
8	8843	10093	2080535	2079285	343	f-2	9011	9572	34	-	G	Predicted N-acetylglucosa minyl transferase	推定N-アセチ ルグルコサミニ ルトランスフェラ ーゼ
9	10095	10379	2079283	2078999	724	f-3	10104	10299	30	PutA	C	NAD-dependent aldehyde	NAD依存性ア ルデヒドデヒド

17	14153	14896	2075225	2074482	347	f-2	14159	14885	379	CysU	P	ABC-type sulfate/molybdate transport systems	ABC型硫酸塩/ モリブデン酸塩 輸送系
18	15239	15964	2074139	2073414	348	f-2	15371	15962	266	-	R	Predicted ATPases	推定ATPアー ゼ
19	16151	16699	2073227	2072679	349	f-2	16505	16649	29	-	R	Predicted ATPases of PP-loop superfamily	推定ATPアー ゼ of PP-ル ースーパー ファミリー
20	16696	17697	2072682	2071681	5	f-1	16708	17686	448	CysA	P	ABC-type sulfate/molybdate transport systems	ABC型硫酸塩/ モリブデン酸塩 輸送系
21	17780	18793	2071598	2070585	2154	r-3	17879	18437	40	HflC	O	Membrane protease subunits	膜プロテアーゼ サブユニット
22	18786	19280	2070592	2070098	1835	r-2	18792	19251	29	NqrA	C	Na ⁺ -transporting NADH:ubiquinone oxidoreductase alpha subunit	Na ⁺ 輸送NADH: ユビキノンオキ シドレダクター ゼ α サブユニッ ト
23	19290	20183	2070088	2069195	1834	r-2	19293	19407	32	-	L	Archaea-specific RecJ-like	古細菌特異的 RecJ様エキソヌ

												exonuclease	クレアーゼ
24	20183	21187	2069195	2068191	2153	r-3	20645	20885	40	Pnp	J	Polyribonucleotide nucleotidyltransferase (polynucleotide phosphorylase)	ポリリボヌクレオチドヌクレオチジルトランスフェラーゼ (ポリヌクレオチドホスホリラーゼ)
25	21266	21919	2068112	2067459	2152	r-3	21269	21908	223	Gph	R	Predicted phosphatases	推定ホスファターゼ
26	21913	22569	2067465	2066809	1466	r-1	21931	22552	320	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
27	22597	24195	2066781	2065183	1465	r-1	22921	24193	691	SAM1	H	S-adenosylhomocysteine hydrolase	S-アデノシルホモシステインヒドロラーゼ
28	23947	24834	2065431	2064544	6	f-1	23953	24808	141	GloB	R	Zn-dependent hydrolases	Zn依存性ヒドロラーゼ
29	24813	25451	2064565	2063927	726	f-3	24879	25446	218	-	R	Uncharacterized ACR	未同定ACR
30	25413	25811	2063965	2063567	1833	r-2	25476	25770	159	RPR2	J	RNAse P protein subunit RPR2	RNアーゼP タンパク質 サブユニット RPR2

31	25813	27396	2063565	2061982	1464	r-1	25930	27364	295	MCM2	L	Predicted ATPase involved in replication control	複製制御に関 与する推定ATP アーゼ
32	27565	28620	2061813	2060758	7	f-1	27568	28012	42	SbcC	L	ATPase involved in DNA repair	DNA修復に関 与するATPアー ゼ
33	28591	29334	2060787	2060044	1463	r-1	28777	29116	33	UshA	F	5'-nucleotidase/2	5'-ヌクレオチダ ーゼ/2'
34	29782	30681	2059596	2058697	8	f-1	29791	30655	227	-	S	Uncharacterized proteins of WD40-like repeat family	WD40様リピート ファミリーの未 同定タンパク質
35	31102	31266	2058276	2058112	9	f-1	31102	31264	94	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
36	31414	32235	2057964	2057143	10	f-1	31414	32182	270	SmtA	Q R	SAM-dependent methyltransferas es COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼCOG0500 SmtA
37	32367	33251	2057011	2056127	727	f-3	32382	33087	202	FlaB	N	Archaeal flagellins (flagellin)	古細菌フラジェ リン(フラジエリ ン=フラゲリン)
38	33291	35033	2056087	2054345	728	f-3	33309	33636	125	FlaB	N	Archaeal flagellins	古細菌フラジェ

												archaeal flagella	アーゼ
46	41072	42694	2048306	2046684	354	f-2	41072	42692	905	VirB11	N	Predicted ATPases involved in pili and flagella biosynthesis	線毛 および 鞭毛合成に 関与する推定 ATPアーゼ
47	42696	44444	2046682	2044934	729	f-3	42696	44436	656	FlaJ	N	Uncharacterized membrane component of archaeal flagella	古細菌鞭毛未 同定膜成分
48	44441	46435	2044937	2042943	355	f-2	45869	46073	36	-	R	Predicted helicases	推定ヘリカーゼ
49	46470	46991	2042908	2042387	730	f-3	46497	46986	294	Pcm	O	Protein-L-isoasp artate carboxylmethyltra nsferase	タンパク質-L- イソアスパラギ ン酸カルボキシ ルメチルトラン スフェラーゼ
50	47171	47416	2042207	2041962	356	f-2	47171	47321	60	SerB	E	Phosphoserine phosphatase	ホスホセリンホ スファターゼ
51	47317	47799	2042061	2041579	14	f-1	47320	47794	143	SerB	E	Phosphoserine phosphatase	ホスホセリンホ スファターゼ
52	47937	49139	2041441	2040239	1832	r-2	47943	49128	224	PppA	N	Signal peptidase	シグナルペプチ ダーゼ

																			short-chain alcohol dehydrogenases) COG1028 FabG	連する)デヒドロ ゲナーゼ COG1028 FabG
71	59898	61799	2029480	2027579	1828	r-2	59910	61719	390	-	C								Aldehyde:ferredox in oxidoreductase	アルデヒド:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ
72	62830	63723	2026548	2025655	19	f-1	62941	63376	40	XerC	L								Integrase	インテグラーゼ
73	64226	65992	2025152	2023386	360	f-2	64697	64985	35	XynB	G								Beta-xylosidase	β-キシロシダ ーゼ
74	66045	67382	2023333	2021996	734	f-3	66330	66741	34	FliD	N								Flagellar capping protein	鞭毛 キャップ ンダタンパク質
75	67399	68973	2021979	2020405	20	f-1	68080	68833	173	AprE	O								Subtilisin-like serine proteases	スブチリシン様 セリン プロテア ーゼ
76	69117	69374	2020261	2020004	735	f-3	69240	69327	32	-	R								Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
77	69583	69795	2019795	2019583	21	f-1														
78	69792	70511	2019586	2018867	736	f-3	69903	70296	36	FtsW	D								Bacterial cell division membrane protein	細菌細胞分裂 膜タンパク質

79	70504	71112	2018874	2018266	22	f-1	70885	70972	32	-	Q	Phytoene dehydrogenase and related proteins	フィトエンデヒド ロゲナーゼ お よび 関連タン パク質
80	71117	71245	2018261	2018133	361	f-2	71123	71237	29	GcvP	E	Glycine cleavage system protein P (pyridoxal-binding)	グリシン切断系 タンパク質 P (ピリドキサル 結合)
81	71679	72593	2017699	2016785	737	f-3	71922	72174	38	IleS	J	Isoleucyl-tRNA synthetase	インロイシル -tRNA シンセ ターゼ
82	72764	73339	2016614	2016039	362	f-2	73049	73235	34	-	K	Predicted transcriptional regulator	推定転写レギュ レーター
83	73336	74643	2016042	2014735	23	f-1	74005	74110	35	GloB	R	Zn-dependent hydrolases	Zn依存性ヒドロ ラーゼ
84	74603	75760	2014775	2013618	363	f-2							
85	75753	76025	2013625	2013353	738	f-3	75786	75972	28	FabG	Q R	Dehydrogenases with different specificities (related to short-chain alcohol	異なる特性の ある(短鎖アル コール)デヒドロ ゲナーゼに関 連する) デヒド ロゲナーゼ

99	87211	87663	2002167	2001715	26	f-1	87226	87619	221	TroR	K	Mn-dependent transcriptional regulator	Mn依存性転写 レギュレーター
100	87663	88265	2001715	2001113	742	f-3	87912	88224	39	NorM	Q	Na ⁺ -driven multidrug efflux pump	Na ⁺ 駆動多剤エ フラックスポン プ
101	88266	89279	2001112	2000099	743	f-3	88395	88851	32	PolC	L	DNA polymerase III alpha subunit	DNA ポリメラー ゼIII α サブユ ニット
102	89307	90059	2000071	1999319	744	f-3	89319	90003	286	-	R	Predicted hydrolases of the HAD superfamily	HAD スーパー ファミリーの推 定ヒドロラーゼ
103	90079	90267	1999299	1999111	27	f-1	90088	90265	131	-	J	Predicted Zn-ribbon RNA-binding protein with a function in translation	翻訳において 機能を有する 推定Zn-リボン RNA結合タンパ ク質
104	90276	90560	1999102	1998818	745	f-3	90285	90558	167	EFB1	J	Translation elongation factor EF-1beta	翻訳 延長因子 EF-1 β

105	90583	91056	1998795	1998322	1458	r-1	90811	90976	32	WecD	K R	Histone acetyltransferase HPA2 and related acetyltransferase s COG0454 WecD	ヒストンアセチ ルトランスフェラ ーゼ HPA2 お よび 関連アセ チルトランスフ ェラーゼ COG0454 WecD
106	91178	91366	1998200	1998012	370	f-2	91268	91355	28	AroC	E	Chorismate synthase	コリスミ酸シンタ ーゼ
107	91363	92979	1998015	1996399	28	f-1	91363	92974	892	PutP	E H R	Na+/proline	Na+/プロリン
108	93072	94550	1996306	1994828	746	f-3	93072	94539	717	HcaD	R	Uncharacterized NAD(FAD)-depen dent dehydrogenases	未同定 NAD(FAD)依存 性デヒドロゲナ ーゼ
109	94552	95712	1994826	1993666	29	f-1	94567	95710	635	DadA	E	Glycine/D-amino acid oxidases (deaminating)	グリシン/D-アミ ノ酸オキシダー ゼ(脱アミノ化)
110	96185	97636	1993193	1991742	371	f-2	96185	97601	702	HcaD	R	Uncharacterized NAD(FAD)-depen dent	未同定 NAD(FAD)依存 性デヒドロゲナ

124	103482	109099	1980896	1980279	2147	r-3	108491	109097	374	PorG	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredoxin oxidoreductases (Indole-pyruvate ferredoxin oxidoreductase)	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ(インドール ピルベートフェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ)
125	109092	111035	1980286	1978343	1827	r-2	109092	110067	452	PorA	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredoxin oxidoreductases (Indole-pyruvate ferredoxin oxidoreductase)	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ(インドール ピルベートフェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ)

126	111643	113019	1977735	1976359	1455	r-1	111652	113017	732	-	C	Acyl-CoA synthetase (NDP forming)	アシル-CoA シンセターゼ (NDP 形成)
127	113205	114563	1976173	1974815	753	f-3	113205	114555	724	-	R	Predicted ATPase of the AAA superfamily	AAA スーパーファミリーの推定ATPアーゼ
128	114668	115351	1974710	1974027	373	f-2	114677	115346	390	-	R	Predicted Zn-dependent hydrolases of the beta-lactamase fold	β-ラクタマーゼフォールドの推定Zn依存性ヒドローラーゼ
129	115397	116401	1973981	1972977	374	f-2	115490	116378	284	LytB	M	Putative cell wall-binding domain	推定 細胞壁結合ドメイン
130	116482	116634	1972896	1972744	1454	r-1	116524	116596	27	-	R	Predicted nucleic-acid-binding protein containing a Zn-ribbon	Zn-リボンを含む推定核酸結合タンパク質

131	116676	117494	1972702	1971884	1826	r-2	116700	117054	34	RecN	L	ATPases involved in DNA repair	DNA修復に関与するATPアーゼ
132	117475	118242	1971903	1971136	1453	r-1	117556	117835	34	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク質
133	118178	118711	1971200	1970667	2146	r-3	118235	118379	30	PitA	P	Phosphate permease	リン酸/硫酸塩パーミアーゼ
134	119061	119939	1970317	1969439	1825	r-2	119100	119931	416	SpeE	E	Spermidine synthase	スペルミジンシンターゼ
135	119973	120485	1969405	1968893	754	f-3	120156	120420	35	-	R	Hydrolases of the alpha/beta superfamily	α/β スーパーファミリーのヒドロラーゼ
136	120479	120952	1968899	1968426	2145	r-3	120479	120947	269	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
137	121121	121192	1968257	1968186	2144	r-3							
138	121404	121856	1967974	1967522	755	f-3	121443	121854	245	GcvH	E	Glycine cleavage system H protein (lipoate-binding)	グリシン切断系Hタンパク質(リポ酸結合)
139	122007	122438	1967371	1966940	756	f-3	122007	122256	90	PspC	K T	Putative stress-responsive transcriptional regulator COG1983 PspC	推定 ストレス応答性転写レギュレーター COG1983 PspC

148	132745	133890	1956633	1955488	35	f-1	132856	133831	394	DmpA	E Q	L-aminopeptidase /D-esterase COG3191 DmpA	トリアミノペプチ ダーゼ/D-エス テラーゼ COG3191 DmpA
149	133885	134547	1955493	1954831	1451	r-1	133900	134527	182	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系
150	134544	134834	1954834	1954544	1822	r-2	134589	134763	30	FhaB	M	Putative hemagglutinin/he molysin	推定 赤血球凝 集素/溶血素
151	134978	135754	1954400	1953624	2141	r-3	135020	135215	33	-	R	Permeases of the major facilitator superfamily	メジャーファシ リテーター ス ーパーファミリ ーのパーミア ーゼ
152	137477	138172	1951901	1951206	2140	r-3	137828	138005	32	-	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR
153	138521	138676	1950857	1950702	2139	r-3	138590	138671	28	Map	J	Methionine aminopeptidase	メチオニン アミ ノペプチダーゼ
154	139365	140972	1950013	1948406	758	f-3	139365	140970	914	-	C	Fe-S	Fe-S オキシド

												oxidoreductases family 2	レダクターゼ フ ファミリー 2
155	141078	141311	1948300	1948067	759	f-3	141087	141294	46	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレー ター
156	141335	141856	1948043	1947522	375	f-2	141335	141797	147	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュ レーター
157	141853	142707	1947525	1946671	1450	r-1	141862	142702	474	Nfo	L	Endonuclease IV	エンドヌクレア ーゼ IV
158	142732	143793	1946646	1945585	1449	r-1	142903	143602	40	SbcC	L	ATPase involved in DNA repair	DNA修復に関 与するATPア ーゼ
159	143756	144931	1945622	1944447	2138	r-3	143765	144896	451	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
160	144924	145235	1944454	1944143	1821	r-2	144936	145224	134	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
161	145334	145951	1944044	1943427	376	f-2	145334	145949	383	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
162	146007	146603	1943371	1942775	1820	r-2	146016	146553	261	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
163	147207	149273	1942171	1940105	1819	r-2	147309	149253	934	-	L	Superfamily I DNA and RNA helicases and	スーパーファミ リー I DNA お よび RNA へリ

												helicase subunits	カーゼ および ヘリカーゼ サ ブユニット
164	149293	149697	1940085	1939681	1448	r-1	149293	149695	230	-	R	Predicted nucleic-acid-bind ing protein containing a Zn-ribbon	Zn-リボンを含 む推定核酸結 合 タンパク質
165	149699	150874	1939679	1938504	2137	r-3	149708	150872	612	PaaJ	I	Acetyl-CoA acetyltransferase s	アセチル-CoA アセチルトラン スフェラーゼ
166	150876	151928	1938502	1937450	1818	r-2	150876	151926	582	PksG	I	3-hydroxy-3-met hylglutaryl CoA synthase	3-ヒドロキシ -3-メチルグル タリル CoA シ ンターゼ
167	152076	152471	1937302	1936907	760	f-3	152076	152433	157	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
168	152417	152743	1936961	1936635	377	f-2	152417	152738	164	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
169	152801	153490	1936577	1935888	2136	r-3	152810	153485	416	NOP1	J	Fibrillar-like rRNA methylase	フィブリラリン様 rRNA メチラー ゼ

170	153487	154752	1935891	1934626	1447	r-1	153487	154609	553	SIK1	J	Protein implicated in ribosomal biogenesis	リボソーム 生 合成に関与す るタンパク質
171	154844	155881	1934534	1933497	2135	r-3	154919	155879	578	GCD2	J	Translation initiation factor eIF-2B delta subunit	翻訳 開始因子 eIF-2B δ サブ ユニット
172	156044	157309	1933334	1932069	378	f-2	156056	157292	602	ARO8	K E	Transcriptional regulators containing a DNA-binding HTH domain and an aminotransferase domain (MocR family) and their eukaryotic orthologs COG1167 ARO8	DNA結合 HTH ドメイン および アミノトランスフ ェラーゼ ドメイ ン (MocR ファ ミリー) を含む 転写レギュレー ター ならびに その真核生物 オルソログ COG1167 ARO8
173	157368	158228	1932010	1931150	761	f-3	157452	157953	129	-	R	Predicted glutamine amidotransferase s	推定グルタミン アミドトランスフ ェラーゼ

174	158158	159018	1931220	1930360	1446	r-1	158179	159016	422	SpIB	L	DNA repair photolyase	DNA修復 ホト リアーゼ
175	158982	159464	1930396	1929914	762	f-3	159054	159462	216	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
176	159517	160083	1929861	1929295	1445	r-1	159517	160081	350	GuaA	F	GMP synthase - Glutamine amidotransferase domain	GMP シンター ゼ - グルタミ ン アミドトラン スフェラーゼ ド メイン
177	160206	160256	1929172	1929122	763	f-3							
178	160526	160744	1928852	1928634	2134	r-3	160619	160733	27	-	G	Acyl-CoA synthetase (NDP forming)	アシル-CoA シ ンセターゼ (NDP 形成)
179	160787	161719	1928591	1927659	2133	r-3	160799	161717	567	GuaA	F	GMP synthase - PP-ATPase domain	GMP シンター ゼ - PP-ATP アーゼドメイン
180	161795	163255	1927583	1926123	2132	r-3	162410	163253	495	GuaB	F	IMP dehydrogenase/G MP reductase	IMP デヒドロゲ ナーゼ/GMPL ダクターゼ
181	163362	164405	1926016	1924973	764	f-3	163503	163761	32				
182	164398	165393	1924980	1923985	1444	r-1	164398	165388	544	-	R	ATP-utilizing enzymes of ATP-grasp	ATP-grasp ス ーパーファミリ ーのATP利用

												superfamily (probably carboligases)	酵素 (おそらく カルボリガー ゼ)
183	165390	167531	1923988	1921847	1817	r-2	165390	167505	1051	PurL	F	Phosphoribosylfor mylglycinamide (FGAM) synthase	ホスホリボシル ホルムイルグリ シンアミジン (FGAM) シンタ ーゼ
184	168881	170377	1920497	1919001	2131	r-3	169019	169826	162	PpsA	G	Phosphoenolpyru vate synthase/pyruvat e phosphate dikinase	ホスホエノール ピルビン酸 シ ンターゼ/ピル ビン酸 リン酸 diキナーゼ
185	170457	171128	1918921	1918250	1816	r-2	170457	171126	385	PurL	F	Phosphoribosylfor mylglycinamide (FGAM) synthase	ホスホリボシル ホルムイルグリ シンアミジン (FGAM) シンタ ーゼ
186	171130	171381	1918248	1917997	1443	r-1	171139	171376	110	PurS	F	Phosphoribosylfor mylglycinamide (FGAM) synthase	ホスホリボシル ホルムイルグリ シンアミジン (FGAM) シンタ ーゼ

187	171383	172534	1917995	1916844	2130	r-3	171392	172532	673	-	R	ATP-utilizing enzymes of ATP-grasp superfamily (probably carboglases)	ATP利用 酵素 of ATP-grasp スーパーファミ リー (おそらく カルポリガー ゼ)
188	172527	173834	1916851	1915544	1815	r-2	172539	173829	602	PurD	F	Phosphoribosyla mine-glycine ligase	ホスホリボシル アミン-グリシン リガーゼ
189	173896	173985	1915482	1915393	1442	r-1							
190	174404	174601	1914974	1914777	379	f-2	174434	174599	29	PolB	L	DNA polymerase elongation subunit (family B)	DNA ポリメラー ゼ延長サブユ ニット (ファミリ ー B)
191	174585	175349	1914793	1914029	765	f-3	174597	174876	34	RAD55	T	RecA-superfamily ATPases implicated in signal transduction	シグナル伝達 に関与する RecA-スーパー ファミリー ATP アーゼ
192	175740	177038	1913638	1912340	1814	r-2	175749	177036	781	PurT	F	Formate-depende nt phosphoribosylgly cinamide	蟻酸塩依存性 ホスホリボシル グリシンアミド ホルムイルトラ

193	177138	178151	1912240	1911227	766	f-3	177147	178146	545	PurM	F	Phosphoribosylaminoimidazole (AIR) synthetase	ホスホリボシルアミノイミダゾール(AIR) シンターゼ
194	178184	178348	1911194	1911030	380	f-2	178217	178331	28	PyrF	F	Orotidine-5'-phosphate decarboxylase	オロチジン-5'-リン酸デカルボキシルターゼ
195	178320	179039	1911058	1910339	1813	r-2	178332	179028	341	PurC	F	Phosphoribosylaminoimidazole succinocarboxamide (SAICAR) synthase	ホスホリボシルアミノイミダゾールスクシノカルボキサミド (SAICAR) シンターゼ
196	179195	180553	1910183	1908825	381	f-2	179195	180551	661	PurF	F	Glutamine phosphoribosylpyrophosphate amidotransferase	グルタミン ホスホリボシルピロリン酸 アミドトランスフェラーゼ

197	180543	181031	1908835	1908347	1812	r-2	180543	181002	102	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合タンパク質
198	181028	181288	1908350	1908090	2129	r-3	181028	181277	73	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
199	181345	183324	1908033	1906054	1441	r-1	181345	183322	984	BisC	C	Anaerobic dehydrogenases	嫌気性デヒドロゲナーゼ
200	183436	184935	1905942	1904443	1440	r-1	184129	184273	33	MalG	G	Sugar permeases	糖パーミアーゼ
201	185362	185955	1904016	1903423	1439	r-1	185365	185953	330	PDX2	H	Predicted glutamine amidotransferase involved in pyridoxine biosynthesis	ピリドキシン合成に関与する推定グルタミンアミドトランスフェラーゼ
202	185988	187004	1903390	1902374	1811	r-2	185997	186966	536	SNZ1	H	Pyridoxine biosynthesis enzyme	ピリドキシン合成酵素
203	187111	187953	1902267	1901425	1438	r-1	187120	187939	410	NadC	H	Nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase	ニコチン酸塩ヌクレオチドピロホスホラーゼ

204	188074	189315	1901304	1900063	36	f-1	188083	189256	188	GCD1	M J	Nucleoside-diphosphate-sugar pyrophosphorylases involved in lipopolysaccharide biosynthesis/translation initiation factor eIF2B subunits COG1208 GCD1	リポポリサッカ リド合成/翻 訳に関与するヌ クレオシド-ジホ スフェート-糖ピ ロホスホリラー ゼ 開始因子 eIF2B サブユ ニット COG1208 GCD1
205	189865	190278	1899513	1899100	37	f-1	189865	190276	167	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
206	190253	190621	1899125	1898757	382	f-2	190253	190583	154	-	R	Predicted nucleotidyltransferases	推定ヌクレオチ ジルトランスフェ ラーゼ
207	190630	191799	1898748	1897579	1437	r-1	190630	191785	715				
208	191874	192509	1897504	1896869	767	f-3	191889	192489	256	SmtA	Q R	SAM-dependent methyltransferases COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼCOG0500 SmtA
209	192535	192981	1896843	1896397	38	f-1	192553	192763	29	PilO	N	Fimbrial assembly protein	フィンブリエアセ ンブリタンパク

224	202103	202924	1887275	1886454	387	f-2	202313	202922	229	SpeB	E	Arginase/agmatinase/formimionoglutamatedehydrolase	アルギナーゼ/ アグマチナーゼ/ ホルムイミノグ ルタミン酸 ヒド ロラーゼ
225	202929	203372	1886449	1886006	769	f-3	202944	203361	187	CDC1 4	T	Predicted protein-tyrosine phosphatase	推定タンパク質 -チロシン ホス ファターゼ
226	203585	204475	1885793	1884903	388	f-2	203633	204170	82	HisS	J	Histidyl-tRNA synthetase	ヒスチジル -tRNA シンセ ターゼ
227	204472	205083	1884906	1884295	41	f-1	204484	205048	155	HisG	E	ATP phosphoribosyltra nsferase (histidine biosynthesis)	ATP ホスホリ ボシルトランス フェラーゼ (ヒ スチジン生合 成)
228	205070	206200	1884308	1883178	389	f-2	205079	206111	276	HisD	E	Histidinol dehydrogenase	ヒスチジノール デヒドロゲナー ゼ
229	206280	206813	1883098	1882565	770	f-3	206280	206766	117	HisB	E	Imidazoleglycerol -phosphate dehydratase	イミダゾールグ リセロール-リン 酸デヒドラター ゼ

230	206810	207397	1882568	1881981	390	f-2	206810	207380	182	HisH	E	Glutamine amidotransferase	グルタミン アミ ドトランスフェラ ーゼ
231	207399	208100	1881979	1881278	771	f-3	207405	208038	162	HisA	E	Phosphoribosylfor mimino-5-aminoi midazole carboxamide ribonucleotide (ProFAR) isomerase	ホスホリボシル ホルムイミノ-5- アミノイミダゾー ル カルボキサ ミド リボヌクレ オチド (ProFAR) イソ メラーゼ
232	208082	208840	1881296	1880538	391	f-2	208082	208826	310	HisF	E	Imidazoleglycerol -phosphate synthase	イミダゾールグ リセロールリン 酸 シンターゼ
233	208850	209479	1880528	1879899	392	f-2	208898	209171	119	HisI	E	Phosphoribosyl-A MP cyclohydrolase	ホスホリボシル -AMP シクロヒ ドロラーゼ
234	209476	210486	1879902	1878892	42	f-1	209542	210427	184	HisC	E	Histidinol-phosph ate aminotransferase /Tyrosine aminotransferase	ヒスチジノール リン酸 アミノト ランスフェラー ゼ/チロシン ア ミノトランスフェ ラーゼ

235	210470	211198	1878908	1878180	393	f-2	210476	210995	37	Gph	R	Predicted phosphatases	推定ホスファターゼ
236	211296	211982	1878082	1877396	772	f-3	211296	211980	355	TrpC	E	Indole-3-glycerol phosphate synthase	インドール-3-グリセロールリン酸シンターゼ
237	211979	212956	1877399	1876422	394	f-2	211985	212951	415	TrpD	E	Anthranilate phosphoribosyltransferase	アントラニル酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ
238	212938	214239	1876440	1875139	43	f-1	212980	214228	610	TrpE	E H	Anthranilate/para-aminobenzoate synthases component I COG0147 TrpE	アントラニル酸/パラ-アミノ安息香酸シンターゼ成分 I COG0147 TrpE
239	214236	214814	1875142	1874564	773	f-3	214236	214806	326	PabA	E H	Anthranilate/para-aminobenzoate synthases component II COG0512 PabA	アントラニル酸/パラ-アミノ安息香酸シンターゼ成分 II COG0512 PabA
240	214807	215433	1874571	1873945	44	f-1	214816	215428	253	TrpF	E	Phosphoribosyl anthranilate isomerase	ホスホリボシルアントラニル酸イソメラーゼ

241	215426	216595	1873952	1872783	395	f-2	215435	216587	676	TrpB	E	Tryptophan synthase beta chain	トリプトファンシ ンターゼ β 鎖
242	216588	217343	1872790	1872035	774	f-3	216588	217323	370	TrpA	E	Tryptophan synthase alpha chain	トリプトファンシ ンターゼ α 鎖
243	217325	218095	1872053	1871283	2127	r-3	217328	217913	85	TyrA	E	Prephenate dehydrogenase	プレフェン酸デ ヒドロゲナーゼ
244	218020	219114	1871358	1870264	1432	r-1	218029	218971	191	AvtA	E	PLP-dependent aminotransferase s	PLP依存性アミ ノトランスフェラ ーゼ
245	219077	219253	1870301	1870125	2126	r-3	219080	219221	35	PheA	E	Chorismate mutase	コリスミ酸ムタ ーゼ
246	219407	220474	1869971	1868904	2125	r-3	219407	220457	530	AroC	E	Chorismate synthase	コリスミ酸シンタ ーゼ
247	220471	221718	1868907	1867660	1431	r-1	220513	221710	470	AroA	E	5-enolpyruvylshik imate-3-phospha te synthase	5-エノールピル ビルシキミ酸 -3-リン酸 シン ターゼ
248	221676	222236	1867702	1867142	1808	r-2	221742	222234	175	-	E H	Archaeal shikimate kinase COG1685 -	古細菌シキミ酸 キナーゼ COG1685 -

249	222472	222852	1866906	1866526	1430	r-1	222472	222850	161	AroE	E	Shikimate 5-dehydrogenase	シキミ酸 5-デ ヒドロゲナーゼ
250	222879	223259	1866499	1866119	1807	r-2	222879	223197	142	AroE	E	Shikimate 5-dehydrogenase	シキミ酸 5-デ ヒドロゲナーゼ
251	223282	223923	1866096	1865455	1429	r-1	223282	223894	207	AroD	E	3-dehydroquinat e dehydratase	3-デヒドロキニ ン酸デヒドラタ ーゼ
252	223877	225022	1865501	1864356	2124	r-3	223885	224876	350	AroB	E	3-dehydroquinat e synthetase	3-デヒドロキニ ン酸 シンセタ ーゼ
253	224890	225804	1864488	1863574	1428	r-1	224965	225682	395	AroA	E	3-Deoxy-D-arabi no-heptulosonate 7-phosphate (DAHP) synthase	3-デオキシシ-D- アラビノ-ヘプツ ロソニン酸 7- リン酸 (DAHP) シンターゼ
254	225801	226844	1863577	1862534	1806	r-2	225924	226824	426	TktA	G	Transketolase	トランスケトラ- ーゼ
255	226718	227377	1862660	1862001	2123	r-3	226742	227369	278	TktA	G	Transketolase	トランスケトラ- ーゼ
256	227370	227741	1862008	1861637	1805	r-2	227463	227547	30	AraC	K	AraC-type DNA-binding domain-containin g proteins	AraC型DNA結 合ドメイン含有 タンパク質

257	227931	228242	1861447	1861136	775	f-3	227985	228237	71	ProC	E	Pyrroline-5-carb oxylate reductase	ピロリン-5-カル ボキシル酸レダ クターゼ
258	228257	228718	1861121	1860660	396	f-2	228257	228701	136	ProC	E	Pyrroline-5-carb oxylate reductase	ピロリン-5-カル ボキシル酸レダ クターゼ
259	228710	229147	1860668	1860231	2122	r-3	228710	229079	201	ArgE	E	Acetylmornithine deacetylase/Suc cinyl-diaminopime late desuccinylase and related deacylases	アセチルオルニ チンデアセチラ ーゼ/スクシニ ル-ジアミノピメ リン酸デスクシ ニラーゼ およ び 関連デアシ ラーゼ
260	229347	229745	1860031	1859633	1804	r-2	229347	229716	195	ArgE	E	Acetylmornithine deacetylase/Suc cinyl-diaminopime late desuccinylase and related deacylases	アセチルオルニ チンデアセチラ ーゼ/スクシニ ル-ジアミノピメ リン酸デスクシ ニラーゼ およ び 関連デアシ ラーゼ

261	229732	230820	1859646	1858558	1427	r-1	229732	230809	523	ArgD	E	PLP-dependent aminotransferase s	PLP依存性アミ ノトランスフェラ ーゼ
262	230826	231581	1858552	1857797	1803	r-2	230826	231579	315	ArgB	E	Acetylglutamate kinase	アセチルグルタ ミン酸キナーゼ
263	231591	232583	1857787	1856795	1802	r-2	231591	232578	564	ArgC	E	Acetylglutamate semialdehyde dehydrogenase	アセチルグルタ ミン酸セミアル デヒドデヒドロ ゲナーゼ
264	232580	233410	1856798	1855968	2121	r-3	232589	233405	437	RimK	H J	Glutathione synthase/Riboso mal protein S6 modification enzyme (glutaminy/ transferase) COG0189 RimK	グルタチオンシ ンターゼ/リボソ ームタンパク 質 S6 修飾酵 素 (グルタミニ ルトランスフェラ ーゼ) COG0189 RimK
265	233428	233589	1855950	1855789	1426	r-1	233431	233512	28	PqiA	S	Uncharacterized paraquat-inducibl e protein A	未同定パラコー ト誘導性タン パク質 A
266	233684	234727	1855694	1854651	2120	r-3	233684	234692	456	LeuB	E	Isocitrate/isoprop ylmalate dehydrogenase	イソクエン酸/イ ソプロピルリン ゴ酸デヒドロゲ

273	239677	240426	1849701	1848952	1424	r-1	239677	240424	406	PhnP	R	Metal-dependent hydrolases of the beta-lactamase superfamily I	β-ラクタマー ゼ スーパーフ アミリー I の金 属依存性ヒドロ ラーゼ
274	240560	243028	1848818	1846350	398	f-2	240662	242990	424	PfID	C	Pyruvate-formate lyase	ピルビン酸-蟻 酸塩 リアーゼ
275	243977	244525	1845401	1844853	399	f-2	244118	244322	35	Arp	R	Ankyrin repeat proteins	アンギリンリピ ート タンパク質
276	244591	245055	1844787	1844323	45	f-1	244591	245044	228	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
277	245052	245747	1844326	1843631	777	f-3	245052	245736	322	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
278	245738	246229	1843640	1843149	2117	r-3	245744	245888	33				
279	246239	246340	1843139	1843038	2116	r-3	246239	246326	26	TehA	P	Tellurite resistance protein and related permeases	亜テルル酸 耐 性 タンパク質 および 関連パ ーミアーゼ
280	247226	248134	1842152	1841244	2115	r-3	247241	248132	503	NadA	H	Quinolinate synthase	キノリン酸 シン ターゼ
281	248197	249606	1841181	1839772	1423	r-1	248275	249586	598	NadB	H	Aspartate oxidase	アスパラギン酸 オキシダーゼ
282	251161	251265	1838217	1838113	46	f-1							

297	269297	270064	1820081	1819314	400	f-2	269378	270059	270	GloB	R	Zn-dependent hydrolases	Zn依存性ヒドロ ラーゼ
298	270052	270306	1819326	1819072	48	f-1	270061	270304	147	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
299	270301	271278	1819077	1818100	1419	r-1	270331	270853	117	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
300	271361	272119	1818017	1817259	401	f-2	271361	272117	317	TatD	L	Mg-dependent DNase	Mg依存性DNA ーゼ
301	272121	272429	1817257	1816949	780	f-3	272208	272421	58	SmtA	Q R	SAM-dependent methyltransferas es COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼ COG0500 SmtA
302	272525	274057	1816853	1815321	2108	r-3	272534	274055	679	FolP	H	Dihydropteroate synthase	ジヒドロプテリン 酸 シンターゼ
303	274244	274963	1815134	1814415	402	f-2	274244	274955	417	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
304	275340	275564	1814038	1813814	781	f-3	275463	275538	27	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合 タンパク質
305	276688	277758	1812690	1811620	49	f-1	277030	277165	33	-	C	Aldehyde:ferredox in oxidoreductase	アルデヒド:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ

306	277759	278526	1811619	1810852	50	f-1	278314	278485	28	ThiP	H	ABC-type thiamine transport system	ABC型チアミン 輸送系
307	278454	278981	1810924	1810397	782	f-3	278700	278793	29	-	K	RNA-binding proteins (RRM domain)	RNA結合タン パク質 (RRM ドメイン)
308	278969	279736	1810409	1809642	403	f-2	279002	279638	156	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系
309	279859	280521	1809519	1808857	1418	r-1	279883	280513	255	HIS2	E R	Histidinol phosphatase and related hydrolases of the PHP family COG1387 HIS2	PHP ファミリー のヒスチジノー ルホスファター ゼ および 関 連ヒドロラーゼ COG1387 HIS2
310	280629	281072	1808749	1808306	783	f-3	280638	281070	251	Sbm	I	Methylmalonyl-C oA mutase	メチルマロニル -CoA ムターゼ
311	281104	282072	1808274	1807306	51	f-1	281113	282061	494	ArgK	E	Putative periplasmic protein kinase ArgK and related GTPases of G3E family	G3E ファミリー の推定 ペリプ ラスムタンパク 質 キナーゼ ArgK および 関連GTPアー

													ゼ
312	282069	282467	1807309	1806911	784	f-3	282069	282462	233	GloA	E	Lactoylglutathione lyase and related lyases	ラクトイルグル タチオンリアー ゼ および 関 連リアーゼ
313	282544	283272	1806834	1806106	1417	r-1	282544	283186	182	WecD	K R	Histone acetyltransferase HPA2 and related acetyltransferases COG0454 WecD	ヒストンアセチ ルトランスフェラ ーゼ HPA2 お よび 関連アセ チルトランスフ ェラーゼ COG0454 WecD
314	283421	284416	1805957	1804962	2107	r-3	283421	284405	414	DUR1	E	Allophanate hydrolase subunit 2	アロファン酸 ヒ ドロラーゼ サ ブユニット 2
315	284413	285099	1804965	1804279	1416	r-1	284419	285085	318	DUR1	E	Allophanate hydrolase subunit 1	アロファン酸 ヒ ドロラーゼ サ ブユニット 1
316	285104	285292	1804274	1804086	2106	r-3	285107	285257	39	VapC	R	Predicted nucleic acid-binding	推定核酸結合 タンパク質

324	289490	289948	1799888	1799430	2104	r-3	289502	289874	33	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合タンパク質
325	290136	291029	1799242	1798349	1795	r-2	290193	291024	363	AlkA	L	3-Methyladenine DNA glycosylase	3-メチルアデニン DNA グリコシラーゼ
326	290939	291157	1798439	1798221	2103	r-3	290975	291065	30	GlgB	G	1	1
327	291353	292696	1798025	1796682	404	f-2	291431	292670	516	-	N	Membrane-bound serine protease (ClpP class) COG1030 -	膜結合セリンプロテアーゼ (ClpP クラス) COG1030 -
328	292703	293509	1796675	1795869	405	f-2	292763	293507	374	HflC	O	Membrane protease subunits	膜プロテアーゼサブユニット
329	293510	293593	1795868	1795785	2102	r-3							
330	293627	294415	1795751	1794963	406	f-2	293636	294413	406	-	D	ATPases involved in chromosome partitioning	染色体分画化に関与するATPアーゼ
331	294346	294663	1795032	1794715	53	f-1							
332	294750	295001	1794628	1794377	785	f-3	294801	294969	28	SecA	N	Preprotein translocase subunit SecA (ATPase)	Preタンパク質トランスロカーゼ サブユニット SecA (ATPアーゼ)

333	295115	296626	1794263	1792752	407	f-2	295115	296624	782	DeoA	F	Thymidine phosphorylase	チミジン ホスホ リラーゼ
334	296627	297139	1792751	1792239	2101	r-3	296882	297017	30	UvrA	L	Excinuclease ATPase subunit	エキヌクレア ーゼ ATPア ーゼサブユニット
335	297204	297731	1792174	1791647	1794	r-2	297270	297720	278	MoaC	H	Molybdenum cofactor biosynthesis enzyme	モリブデン補因 子生合成 酵素
336	297773	298702	1791605	1790676	408	f-2	297785	298694	452	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系
337	298699	300825	1790679	1788553	54	f-1	298768	300298	273	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
338	300795	301748	1788583	1787630	786	f-3	300822	301671	226	NosY	R	ABC-type transport system involved in multi-copper enzyme maturation	多重銅酵素 成 熟に関与する ABC型輸送系
339	301803	303251	1787575	1786127	1793	r-2	302097	303249	645	RtoB	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
340	303305	303766	1786073	1785612	2100	r-3	303374	303752	140	-	S	Uncharacterized	未同定ACR

												ACR		
341	303750	304688	1785628	1784690	1792	r-2	303750	304662	427	Sun	J	tRNA and rRNA cytosine-C5-met hylases	tRNA および rRNA シトシン -C5-メチラーゼ	
342	304698	305126	1784680	1784252	1791	r-2	304698	305124	183	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR	
343	305339	306193	1784039	1783185	409	f-2	305339	306185	437	PanB	H	Ketopantoate hydroxymethyltra nsferase	ケトパントデン 酸ヒドロキシメ チルトランスフ ェラーゼ	
344	306190	306858	1783188	1782520	55	f-1	306193	306853	272	WcaA	M	Glycosyltransfera ses involved in cell wall biogenesis	細胞壁 生合成 に関するグリ コシルトランス フェラーゼ	
345	307473	307700	1781905	1781678	787	f-3	307527	307656	26	BaeS	T	Sensory transduction histidine kinases	感覚器 伝達ヒ スチジン キナ ーゼ	
346	308311	308886	1781067	1780492	1413	r-1	308311	308875	240	ThiI	H	Thiamine biosynthesis ATP pyrophosphatase	チアミン生合成 ATPピロホスフ アターゼ	
347	308930	309406	1780448	1779972	2099	r-3	308930	309377	139	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質	

348	309492	310637	1779886	1778741	1790	r-2	309498	310497	350	ThiI	H	Thiamine biosynthesis ATP pyrophosphatase	チアミン合成 ATPピロホスファターゼ
349	310642	311016	1778736	1778362	1412	r-1	310708	310894	31	ThiP	H	ABC-type thiamine transport system	ABC型チアミン輸送系
350	311017	311625	1778361	1777753	1411	r-1	311035	311569	62	NfnB	C	Nitroreductase	ニトロレダクターゼ
351	312108	312536	1777270	1776842	1789	r-2	312399	312528	29	PhoU	P	Phosphate uptake regulator	リン酸 取り込み レギュレーター
352	312637	312903	1776741	1776475	56	f-1							
353	312953	313306	1776425	1776072	410	f-2	313193	313301	32	-	R	ATPases of the PiIT family	PiIT ファミリーのATPアーゼ
354	313344	314120	1776034	1775258	788	f-3	313407	314118	356	-	Q	Maleate cis-trans isomerase	マレイン酸システートランスイソメラーゼ
355	314205	314447	1775173	1774931	789	f-3	314313	314436	30	AraC	K	AraC-type DNA-binding domain-containing proteins	AraC型DNA結合ドメイン含有タンパク質
356	314429	315589	1774949	1773789	411	f-2	314453	314765	39	GloB	R	Zn-dependent hydrolases	Zn依存性ヒドロラーゼ

357	315618	316058	1773760	1773320	1788	r-2	315762	315858	32	KatE	P	Catalase	カタラーゼ
358	316245	316973	1773133	1772405	1787	r-2	316245	316971	423	Spo0J	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
359	317124	318272	1772254	1771106	790	f-3	317136	318267	480	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
360	318265	319239	1771113	1770139	1410	r-1	318388	319225	367	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
361	319807	319851	1769571	1769527	1409	r-1							
362	320239	320928	1769139	1768450	57	f-1	320308	320521	38	XerC	L	Integrase	インテグラーゼ
363	321374	321511	1768004	1767867	412	f-2							
364	321508	321696	1767870	1767682	58	f-1	321517	321649	28	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合タンパク質
365	322012	322365	1767366	1767013	59	f-1	322060	322228	31	CysZ	E	Uncharacterized protein involved in cysteine biosynthesis	システイン生合成に関与する未同定タンパク質
366	322265	324256	1767113	1765122	413	f-2	322982	323261	36	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク質
367	324261	326399	1765117	1762979	791	f-3	324882	325074	34	Arp	R	Ankyrin repeat proteins	アンキリンリピートタンパク質
368	326552	326935	1762826	1762443	414	f-2	326639	326792	31	AmtB	P	Ammonia	アンモニアパー

376	331691	332452	1757687	1756926	418	f-2	332153	332312	32	GimU	M	N-acetylglucosamine-1-phosphate uridylyltransferase (contains nucleotidyltransferase and I-patch acetyltransferase domains)	N-アセチルグルコサミン-1-リン酸 ウリジルトランスフェラーゼ (ヌクレオチジルトランスフェラーゼ および I-patch アセチルトランスフェラーゼ ドメインを含む)
377	332449	332736	1756929	1756642	63	f-1							
378	334175	334945	1755203	1754433	419	f-2	334223	334319	31	CirA	P	Outer membrane receptor proteins	外膜レセプタータンパク質
379	335068	335664	1754310	1753714	64	f-1	335158	335434	35	-	R	Uncharacterized CBS domain-containing proteins	未同定CBS ドメイン含有タンパク質
380	337045	337260	1752333	1752118	65	f-1	337087	337222	28	-	G C	Glycosyl transferases	グリコシルトランスフェラーゼ
381	337711	338295	1751667	1751083	1408	r-1	338050	338284	37	-	L	MutS-like ATPases involved in mismatch	ミスマッチ修復に関与する MutS様ATPア

												repair	一ゼ
382	339363	339788	1750015	1749590	793	f-3	339441	339639	34	-	L	Replication factor A large subunit and related ssDNA-binding proteins	複製因子A ラージサブユニット および 関連 ssDNA結合 タンパク質
383	340641	340727	1748737	1748651	794	f-3							
384	341558	341995	1747820	1747383	420	f-2	341600	341747	42	AbrB	K	Regulators of stationary/sporulation gene expression	定常期/胞子形成 遺伝子発現 のレギュレーター
385	342397	343461	1746981	1745917	66	f-1	343126	343363	36	MarR	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター
386	343454	343891	1745924	1745487	421	f-2	343538	343760	32	-	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR
387	343888	344076	1745490	1745302	67	f-1	343912	343987	29	PyrG	F	CTP synthase (UTP-ammonia lyase)	CTP シンターゼ (UTP-アンモニア リアーゼ)
388	344090	344401	1745288	1744977	422	f-2							

389	345281	345472	1744097	1743906	423	f-2	345350	345464	26	NlpD	M	Membrane proteins related to metalloendopeptidases	メタロエンドペプチダーゼに関連する膜タンパク質
390	345566	345622	1743812	1743756	2098	r-3							
391	345615	345740	1743763	1743638	795	f-3							
392	346174	346356	1743204	1743022	68	f-1	346183	346297	28	NrfG	R	TPR-repeat-containing proteins	TPR-リピート含有タンパク質
393	346528	346881	1742850	1742497	69	f-1	346651	346837	28	-	L	Replication factor A large subunit and related ssDNA-binding proteins	複製因子A ラージサブユニット および 関連 ssDNA結合タンパク質
394	346606	346668	1742772	1742710	1407	r-1							
395	347138	348463	1742240	1740915	424	f-2	347351	348461	427	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
396	348567	350417	1740811	1738961	1786	r-2	348567	350403	1032	-	E	Serine proteases of the peptidase family S9A	ペプチダーゼファミリー S9Aのセリン プロテアーゼ
397	350537	351598	1738841	1737780	425	f-2	350537	350981	162	RibD	H	Pyrimidine deaminase	ピリミジンデアミナーゼ

398	351592	352155	1737786	1737223	70	f-1	351601	352150	191	RibC	H	Riboflavin synthase alpha chain	リボフラビン シ ンターゼ α 鎖
399	352419	352985	1736959	1736393	796	f-3	352461	352647	30	-	R	Predicted membrane-associated	推定膜会合
400	353923	354102	1735455	1735276	71	f-1	354010	354097	25	LytR	K	Transcriptional regulator	転写レギュレー ター
401	354174	355334	1735204	1734044	797	f-3	354723	355320	243	RibA	H	GTP cyclohydrolase II	GTP シクロヒド ロラーゼ II
402	355393	355872	1733985	1733506	72	f-1	355414	355849	170	RibH	H	Riboflavin synthase beta-chain	リボフラビン シ ンターゼ β 鎖
403	355856	356452	1733522	1732926	2097	r-3	355862	356387	125	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
404	356449	357381	1732929	1731997	1406	r-1	356455	357211	170	-	R	ATP-utilizing enzymes of ATP-grasp superfamily (probably carboligases)	ATP-grasp ス ーパーファミリ ー (おそらくカ ルポリガーゼ) のATP利用 酵 素
405	357378	358037	1732000	1731341	1785	r-2	357378	357969	140	PurC	F	Phosphoribosyla minoimidazolesuc	ホスホリボシル アミノイミダゾー

											cinocarboxamide (SAICAR) synthase	ルスクシノカル ボキサミド (SAICAR) シン ターゼ
406	358034	359329	1731344	1730049	2096	r-3	358043	359312	651	ThiC	H	チアミン合成 タンパク質 ThiC
407	359407	360171	1729971	1729207	73	f-1	359416	360163	386	-	R	フラビンタンパ ク質
408	360168	361466	1729210	1727912	798	f-3	360171	360888	200	ThiD	H	ヒドロキシメチ ルピリミジン/ホ スホメチルピリ ミジン キナー ゼ
409	361497	363407	1727881	1725971	799	f-3	361506	363378	1016	-	R	未同定ABC型ト ランスポーター
410	366699	367151	1722679	1722227	1784	r-2	366879	367050	33	-	R	推定金属依存 性膜プロテアー ゼ
411	367290	368240	1722088	1721138	1783	r-2	367932	368190	35	HypF	O	ヒドロゲナーゼ 成熟 因子

412	368237	369289	1721141	1720089	2095	r-3	368243	368948	301	SlpA	O	FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerases 2	FKBP型ペプチ ジル-プロリル シス-トランス イソメラーゼ 2
413	370634	371449	1718744	1717929	426	f-2	371216	371363	30	CaIA	I	Acyl-CoA dehydrogenases	アシル-CoA デ ヒドロゲナーゼ
414	371481	372920	1717897	1716458	800	f-3	371490	372918	859	CysS	J	CysteinyI-tRNA synthetase	システイニル -tRNA シンセ ターゼ
415	374488	374550	1714890	1714828	74	f-1							
416	374583	374840	1714795	1714538	801	f-3	374583	374832	129	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
417	374833	375534	1714545	1713844	1405	r-1	375247	375427	32	-	L	Predicted transposase	推定トランスポ ザーゼ
418	375535	376308	1713843	1713070	1404	r-1	375535	376294	105	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
419	376000	376092	1713378	1713286	75	f-1							
420	376298	376771	1713080	1712607	2094	r-3	376298	376769	238	-	K	Predicted transcriptional regulator	推定転写レギュ レーター
421	379177	380310	1710201	1709068	1403	r-1	379756	379984	38	Tar	N	Methyl-accepting chemotaxis protein	メチル受容化学 走性タンパク 質

422	380366	381109	1709012	1708269	2093	r-3	380558	381047	32	SPS1	T	Serine/threonine protein kinases	セリン/スレオニ ンタンパク質 キナーゼ
423	381111	382313	1708267	1707065	1782	r-2	381642	382305	360	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
424	382310	382675	1707068	1706703	2092	r-3	382454	382604	29	HisS	J	Histidyl-tRNA synthetase	ヒスチジル -tRNA シンセ ターゼ
425	382850	383839	1706528	1705539	2091	r-3	382859	383837	516	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
426	384244	384471	1705134	1704907	1402	r-1	384244	384304	42	AbrB	K	Regulators of stationary/sporul ation gene expression	定常期/胞子形 成 遺伝子発現 のレギュレータ ー
427	384528	385040	1704850	1704338	1781	r-2	384534	385035	239	-	L	RecB family exonuclease	RecB ファミリ ー エキソヌクレ アーゼ
428	385030	386139	1704348	1703239	1401	r-1	385138	385843	40	-	R	Predicted ATPase of the AAA superfamily	AAA スーパー ファミリーの推 定ATPアーゼ
429	389056	390132	1700322	1699246	1400	r-1	389056	390127	503	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

430	390129	391328	1699249	1698050	1780	r-2	390450	390630	32	-	S	Uncharacterized proteins of WD40-like repeat family	WD40様リピートファミリーの未同定タンパク質
431	391570	392187	1697808	1697191	1399	r-1	391570	392140	247	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
432	392614	393321	1696764	1696057	1398	r-1	392674	393319	399	-	C	Acyl-CoA synthetase (NDP forming)	アシル-CoA シンセターゼ (NDP 形成)
433	393449	394750	1695929	1694628	427	f-2	394415	394688	30	WcaG	M G	Nucleoside-diphosphate-sugar epimerases COG0451 WcaG	ヌクレオシド-ジリン酸-糖 エピメラーゼ COG0451 WcaG
434	394894	398109	1694484	1691269	76	f-1	396901	397378	42	Tar	N	Methyl-accepting chemotaxis protein	メチル受容化学走性 タンパク質
435	398178	398471	1691200	1690907	1779	r-2	398202	398352	27	Sms	O	Predicted ATP-dependent serine protease	推定ATP依存性セリン プロテアーゼ
436	398502	399011	1690876	1690367	802	f-3	398772	398904	30	EmrK	Q	Multidrug resistance efflux pump	多剤耐性 エフラックスポンプ

437	399050	404185	1690328	1685193	428	f-2	399050	401933	1348	-	L	Reverse gyrase	逆ギラーゼ
438	404484	405290	1684894	1684088	803	f-3	404487	405282	409	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
439	405419	405631	1683959	1683747	2090	r-3	405422	405554	38	-	K	Predicted transcriptional regulator	推定転写レギュレーター
440	405628	405963	1683750	1683415	1397	r-1	405640	405955	155	-	R	Uncharacterized Zn-finger containing protein	未同定Zn-フィンガー含有タンパク質
441	405960	406709	1683418	1682669	1778	r-2	405975	406707	256	SpeB	E	Arginase/agmatinase/formimionoglutaminate hydrolase	アルギナーゼ/アグマチナーゼ/ホルムイミノグルタミン酸ヒドロラーゼ
442	406835	408055	1682543	1681323	429	f-2	406835	407465	358	SgbH	G	3-hexulose-6-phosphate synthase and related proteins	3-ヘクスロース-6-リン酸シンターゼ および関連タンパク質
443	408052	408807	1681326	1680571	77	f-1	408082	408796	262	FtsZ	D	Cell division GTPase	細胞分裂 GTPアーゼ
444	408809	409462	1680569	1679916	430	f-2	408818	409448	248	-	R	Predicted hydrolases of the	HAD スーパーファミリーの推

451	413926	414252	1675452	1675126	79	f-1	413938	414175	30	SurA	O	Parvulin-like peptidyl-prolyl isomerase	パルブリン様ペ プチジル-プロ リル イソメラー ゼ
452	414877	415209	1674501	1674169	80	f-1	414877	415123	31	ArgS	J	Arginyl-tRNA synthetase	アルギニル -tRNA シンセ ターゼ
453	417109	417270	1672269	1672108	81	f-1	417115	417259	27	PutA	E	Proline dehydrogenase	プロリン デヒド ロゲナーゼ
454	417291	417929	1672087	1671449	807	f-3	417330	417462	30	MetC	E	Cystathionine beta-lyases/cyst athionine gamma-synthase s	シスタチオニン β-リアーゼ/シ スタチオニン γ-シンターゼ
455	418636	419175	1670742	1670203	82	f-1	418663	419017	33	-	S	Uncharacterized proteins of WD40-like repeat family	WD40様リピート ファミリーの未 同定タンパク質
456	419247	420563	1670131	1668815	808	f-3	419247	420561	771	AsnS	J	Aspartyl/asparagi nyl-tRNA synthetases (Aspartyl-tRNA synthetase)	アスパルチル/ アスパラギニル -tRNA シンセ ターゼ(アスパ ルチル-tRNA

457	420627	422132	1668751	1667246	809	f-3	421635	421917	33	-	R	Uncharacterized membrane protein	未同定膜タンパク質	シンセターゼ)
458	422333	422719	1667045	1666659	433	f-2								
459	422876	424030	1666502	1665348	2089	r-3	422876	424019	541	AbgB	R	Metal-dependent amidase/aminoacylase/carboxypeptidase	金属依存性アミダーゼ/アミノアシラーゼ/カルボキシペプチダーゼ	
460	426547	426711	1662831	1662667	83	f-1								
461	426747	427742	1662631	1661636	810	f-3	426750	427734	452	-	R	Predicted methyltransferase	推定メチルトランスフェラーゼ	
462	427799	429064	1661579	1660314	434	f-2	427820	429011	224	-	R	Uncharacterized ATPases of the AAA superfamily	AAA スーパーファミリーの未同定ATPアーゼ	
463	429065	430390	1660313	1658988	2088	r-3	429065	430388	624	TldD	R	Predicted Zn-dependent proteases and their inactivated homologs	推定Zn依存性プロテアーゼおよびその不活性化ホモログ	

464	430394	430633	1658984	1658745	2087	r-3	430490	430592	30	SpoU	J	rRNA methylases	rRNA メチラーゼ
465	430618	430785	1658760	1658593	1396	r-1	430654	430720	25	PncA	Q	Amidases related to nicotinamidase	ニコチンアミダーゼに関連するアミダーゼ
466	430883	432259	1658495	1657119	2086	r-3	430883	432257	780	TldD	R	Predicted Zn-dependent proteases and their inactivated homologs	推定Zn依存性プロテアーゼおよびその不活性化ホモログ
467	432397	432738	1656981	1656640	84	f-1	432397	432733	176	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
468	432751	433449	1656627	1655929	85	f-1	432760	433429	319	RacX	M	Aspartate racemase	アスパラギン酸ラセマーゼ
469	433446	434621	1655932	1654757	1777	r-2	433650	434616	391	CorA	P	Mg2+ and Co2+ transporters	Mg2+ および Co2+ トランスポーター
470	434530	435735	1654848	1653643	86	f-1	434542	435733	681	-	R	Predicted GTPase	推定GTPアーゼ
471	435779	436300	1653599	1653078	2085	r-3	435779	436295	208	CyaB	F	Adenylate cyclase	アデニル酸シクラーゼ
472	436300	436812	1653078	1652566	1395	r-1	436339	436810	201	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター

473	437409	438209	1651969	1651169	811	f-3	437415	438207	286	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
474	438222	439658	1651156	1649720	1776	r-2	438222	439650	588	PykF	G	Pyruvate kinase	ピルビン酸 キ ナーゼ
475	439696	440403	1649682	1648975	1394	r-1	439696	440368	147	-	R	Predicted Zn-dependent proteases	推定Zn依存性 プロテアーゼ
476	440578	441444	1648800	1647934	87	f-1	440578	441442	390	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
477	441511	441882	1647867	1647496	88	f-1	441511	441880	136	CrcB	D	Integral membrane protein possibly involved in chromosome condensation	染色体凝縮に おそらく関連す る一体化膜タン パク質
478	441887	442267	1647491	1647111	435	f-2	441887	442262	231	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
479	442358	442873	1647020	1646505	436	f-2	442448	442634	29	-	G	2-Phosphoglycer ate kinase	2-ホスホグリセ リン酸 キナー ゼ
480	442922	444142	1646456	1645236	437	f-2	442931	444140	630	Dfp	H	Phosphopantothe noylcysteine synthetase/decar boxylase	ホスホパントテ ノイルシステイ ン シンセター ゼ/デカルボキ

													シラーゼ
481	444220	444681	1645158	1644697	89	f-1	444295	444607	39	ZntA	P	Cation transport ATPases	カチオン輸送 ATPアーゼ
482	444972	445310	1644406	1644068	812	f-3	444972	445278	69	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
483	446197	448899	1643181	1640479	1393	r-1	446209	448864	962	-	R	Distinct helicase family with a unique C-terminal domain including a metal-binding cysteine cluster	金属結合 システイン クラスターを含む特有のC末端ドメインを伴う異なるヘリカーゼ ファミリー
484	448945	450294	1640433	1639084	1392	r-1	449620	450244	148	-	R	Predicted hydrolase of the alpha/beta superfamily	α/β スーパーファミリーの推定ヒドロラーゼ
485	450481	450996	1638897	1638382	90	f-1	450481	450994	274	-	C	Ruberythrin	ルブレリトリン
486	451077	451238	1638301	1638140	813	f-3	451077	451236	111	-	C	Rubredoxin	ルブレドキシン
487	451250	451597	1638128	1637781	438	f-2	451250	451595	224	-	C	Desulfoferrodoxin	デスルホフェロドキシ

488	452770	453123	1636608	1636255	91	f-1	452818	452929	33	Mrp	D	ATPases involved in chromosome partitioning	染色体分画化 ATPアーゼ
489	453183	454601	1636195	1634777	814	f-3	453318	454590	772	GlyA	E	Glycine hydroxymethyltransferase	グリシンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ
490	454835	455341	1634543	1634037	439	f-2	454952	455234	33	-	R	Large extracellular alpha-helical protein	ラーゼ細胞外 α -ヘリックス タンパク質
491	455338	455502	1634040	1633876	92	f-1	455362	455437	25	-	G	Cellobiose phosphorylase	セロビオースホスホリラーゼ
492	456330	456662	1633048	1632716	815	f-3	456330	456660	174	RPB9	K	DNA-directed RNA polymerase subunit M/Transcription elongation factor TFIIS	DNA指向性 RNA ポリメラーゼサブユニット M/転写延長因子 TFIIS
493	456623	456835	1632755	1632543	440	f-2	456659	456734	28	WecD	K R	Histone acetyltransferase HPA2 and related acetyltransferases COG0454 WecD	ヒストンアセチルトランスフェラーゼ HPA2 および 関連アセチルトランスファ

501	464266	464421	1625112	1624957	1391	r-1	464320	464380	26	RplW	J	Ribosomal protein L23	リボソームタンパク質 L23
502	464460	464972	1624918	1624406	1773	r-2	464460	464970	218	MoaB	H	Molybdopterin biosynthesis enzymes	モリブドプテリン合成酵素
503	465336	466562	1624042	1622816	816	f-3	465360	466560	653	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
504	466632	466847	1622746	1622531	1772	r-2							
505	466975	467631	1622403	1621747	97	f-1	466975	467581	273	-	R	Predicted phosphoesterase	推定ホスホエステラーゼ
506	467628	468806	1621750	1620572	1771	r-2	467637	468804	686	AvtA	E	PLP-dependent aminotransferase	PLP依存性アミノトランスフェラーゼ
507	471018	472637	1618360	1616741	1770	r-2	471027	472629	799	-	O	Predicted carbamoyl transferase	推定カルバモイルトランスフェラーゼ
508	472691	474145	1616687	1615233	2083	r-3	472706	474143	726	ProS	J	Prolyl-tRNA synthetase	プロリル-tRNA シンセターゼ

509	474239	475240	1615139	1614138	441	f-2	474239	475193	469	LdhA	G	Lactate dehydrogenase and related dehydrogenases COG1052 LdhA	乳酸デヒドロゲ ナーゼ および 関連デヒドロゲ ナーゼ COG1052 LdhA
510	475250	475708	1614128	1613670	442	f-2	475403	475541	45	FrX	G	Cellulase M and related proteins	セルラーゼM および 関連タ ンパク質
511	475702	477042	1613676	1612336	98	f-1	475768	477031	662	-	R	Predicted DNA-binding protein containing a Zn-ribbon domain	Zn-リボンドメイ ンを含む推定 DNA結合 タン パク質
512	477049	477657	1612329	1611721	99	f-1	477061	477640	249	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
513	477738	478031	1611640	1611347	817	f-3							
514	477971	479050	1611407	1610328	2082	r-3	477980	479039	533	GCN3	J	Translation initiation factor eIF-2B alpha subunit	翻訳 開始因子 eIF-2B α サブ ユニット
515	478881	479639	1610497	1609739	818	f-3	479103	479622	191	-	R	Predicted ATPases or kinases	推定ATPアー ゼ または キ ナーゼ

516	479629	480162	1609749	1609216	1390	r-1	479635	480148	228	-	R	CBS domains	CBS ドメイン
517	480198	480755	1609180	1608623	1769	r-2	480219	480501	52	ArsR	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
518	480843	481127	1608535	1608251	1768	r-2	480852	481119	129	Ssh10b	K	Archaeal DNA-binding protein	古細菌DNA結合タンパク質
519	481315	482679	1608063	1606699	100	f-1	481315	482656	775	PurB	F	Adenylosuccinate lyase	アデニロコハク酸リアーゼ
520	484981	485445	1604397	1603933	101	f-1	485002	485437	219	-	H	6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase	6-ピルビル-テトラヒドロプテリンシンターゼ
521	485442	486008	1603936	1603370	1767	r-2	485529	485790	31	TrpD	E	Anthraniolate phosphoribosyltransferase	アントラニル酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ
522	486065	486484	1603313	1602894	443	f-2	486080	486473	167	-	R	Predicted DNA-binding proteins with PD1-like DNA-binding motif	PD1様DNA結合モチーフを伴う推定DNA結合タンパク質

523	486481	488979	1602897	1600399	1389	r-1	486481	488977	1328	-	R	Specific archaeal helicases	特異的古細菌 ヘリカーゼ
524	489517	490644	1599861	1598734	1388	r-1	489604	490642	651	TyrS	J	Tyrosyl-tRNA synthetase	チロシル-tRNA シンセターゼ
525	490744	491844	1598634	1597534	102	f-1	491755	491842	38	OppA	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニッケル輸 送系
526	491922	493376	1597456	1596002	819	f-3	492033	493350	412	TbpA	H	ABC-type iron/thiamine transport systems	ABC型鉄/チア ミン 輸送系
527	493561	495408	1595817	1593970	103	f-1	493843	495388	396	ThiP	H	ABC-type thiamine transport system	ABC型チアミン 輸送系
528	495410	496480	1593968	1592898	444	f-2	495419	496436	314	MalK	G	ABC-type sugar/spermidine /putrescine/iron/ thiamine transport systems	ABC型糖/スぺ ルミジン/プトレ シン/鉄/チアミ ン 輸送系

529	497090	499186	1592288	1590192	445	r-2	497276	498920	114	Icc	R	Predicted phosphohydrolase s	推定ホスホヒドロラーゼ
530	499596	499949	1589782	1589429	1766	r-2	499647	499797	30	MipB	G	Transaldolase	トランスアルドラーゼ
531	500938	501252	1588440	1588126	1387	r-1	500971	501085	29	SpoU	J	rRNA methylases	rRNA メチラーゼ
532	501249	501479	1588129	1587899	1765	r-2	501312	501420	28	AceE	C	Pyruvate dehydrogenase	ピルビン酸 デヒドロゲナーゼ
533	501658	502464	1587720	1586914	1386	r-1	501703	502453	241	DnaN	L	DNA polymerase III beta subunit (Proliferating cell nuclear antigen=PCNA)	DNA ポリメラーゼ III β サブユニット (増殖細胞核抗原=PCNA)
534	502547	502792	1586831	1586586	2081	r-3	502661	502784	30	XylB	G	Sugar (pentulose and hexulose) kinases	糖 (ペンツロースおよびヘクソース) キナーゼ
535	502785	502967	1586593	1586411	1764	r-2	502821	502959	32	RpoC	K	DNA-directed RNA polymerase beta' subunit/160 kD subunit (split gene in archaea)	DNA指向性 RNA ポリメラーゼ β' サブユニット/160 kD サブユニット (古細菌)

												family hydrolases COG0537 Hit	他のHIT ファミ リー ヒドロラー ゼ COG0537 Hit
545	514843	515223	1574535	1574155	1383	r-1	514873	515029	29	-	R	Uncharacterized proteins of the AP superfamily	AP スーパーフ ファミリーの未同 定タンパク質
546	515543	515791	1573835	1573587	2079	r-3	515636	515699	28	RplC	J	Ribosomal protein L3	リボソーム タン パク質 L3
547	517003	517803	1572375	1571575	1382	r-1	517276	517618	44	Smc	D	Chromosome segregation ATPases	染色体分離 ATPアーゼ
548	517805	518281	1571573	1571097	2078	r-3	517997	518111	29	-	N	Predicted secreted acid phosphatase	推定分泌型酸 ホスファターゼ
549	518278	518760	1571100	1570618	1381	r-1	518296	518515	28	-	R	Predicted hydrolase of alkaline phosphatase superfamily	推定ヒドロラー ゼ of アルカリ ホスファターゼ スーパーファミ リー
550	518772	519575	1570606	1569803	1761	r-2							
551	519579	519809	1569799	1569569	1760	r-2	519735	519798	26	Rbn	J	tRNA-processing ribonuclease BN	tRNA-プロセシ ングリボヌクレ

																			アーゼ BN
552	520158	520541	1569220	1568837	1759	r-2	520245	520398	31	AmtB	P	Ammonia permeases	アンモニアパーミアーゼ						
553	520694	522628	1568684	1566750	2077	r-3	521111	521303	34	Arp	R	Ankyrin repeat proteins	アンギリンリピートタンパク質						
554	522837	524828	1566541	1564550	1758	r-2	523617	523854	35	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク質						
555	524728	525042	1564650	1564336	1380	r-1	524737	524905	31	CysZ	E	Uncharacterized protein involved in cysteine biosynthesis	システイン合成に関与する未同定タンパク質						
556	525397	525585	1563981	1563793	1379	r-1	525406	525538	28	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合タンパク質						
557	525884	526483	1563494	1562895	2076	r-3	526004	526199	29	-	K	Predicted RNA-binding protein homologous to eukaryotic snRNP	真核生物 snRNPに相同な推定RNA結合タンパク質						
558	527199	527468	1562179	1561910	821	f-3	527208	527451	153	RPL43 A	J	Ribosomal protein L37AE/L43A	リボソームタンパク質 L37AE/L43A						

559	527689	528324	1561689	1561054	104	f-1	527698	528319	339	IMP4	J	Protein containing the IMP4 domain present in small nuclear ribonucleoproteins; implicated in RNA processing	スモール核リボ核タンパク質に存在するIMP4ドメインを含むタンパク質;RNAプロセシングに関連する
560	528364	528969	1561014	1560409	105	f-1	528364	528967	266	MnhE	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット Na ⁺ /H ⁺ アンチポーター
561	528984	529217	1560394	1560161	822	f-3	528993	529212	84	MnhF	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット Na ⁺ /H ⁺ アンチポーター
562	529214	529528	1560164	1559850	449	f-2	529280	529526	97	MnhG	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット Na ⁺ /H ⁺ アンチポーター
563	529509	529739	1559869	1559639	823	f-3	529509	529737	61	MnhB	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット Na ⁺ /H ⁺ アンチポーター
564	529736	529981	1559642	1559397	450	f-2	529817	529979	59	MnhB	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット Na ⁺ /H ⁺ アンチポーター

565	529978	530385	1559400	1558993	106	f-1	529978	530383	122	MnhB	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット Na ⁺ /H ⁺ アン チポーター
566	530659	532146	1558719	1557232	107	f-1	530749	531982	315	HyfB	C P	Formate hydrogenlyase subunit 3/Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	蟻酸塩 水素リ アーゼ サブユ ニット 3/多重 サブユニット Na ⁺ /H ⁺ アンチ ポーター
567	532123	532530	1557255	1556848	1378	f-1	532123	532525	172	IlvH	E	Acetolactate synthase	アセト乳酸シン ターゼ
568	532615	533754	1556763	1555624	108	f-1	532684	533521	77	KefB	P	Kef-type K ⁺ transport systems	Kef型K ⁺ 輸送 系
569	533789	534916	1555589	1554462	451	f-2	534575	534905	33	Smc	D	Chromosome segregation ATPases	染色体分離 ATPアーゼ
570	534917	535363	1554461	1554015	2075	f-3	534926	535361	249	CheW	N	Chemotaxis signal transduction protein	化学走性 シグ ナル伝達 タン パク質
571	535366	536694	1554012	1552684	1377	f-1	535876	536542	231	Tar	N	Methyl-accepting chemotaxis protein	メチル受容化学 走性 タンパク 質

579	542201	542914	1547087	1546464	453	f-2	542291	542903	303	CheC	N T	Chemotaxis protein CheC	化学走性タン パク質 CheC
580	542904	545159	1546474	1544219	827	f-3	542916	545154	640	Tar	N	Methyl-accepting chemotaxis protein	メチル受容化学 走性タンパク 質
581	545191	545688	1544187	1543690	111	f-1	545206	545686	259	CheD	N T	Chemotaxis protein; stimulates methylation of MCP proteins COG1871 CheD	化学走性タン パク質; MCP タ ンパク質 COG1871 CheD のメチル化を刺 激する
582	545706	546455	1543672	1542923	828	f-3	545892	546411	40	-	S	Uncharacterized archaeal coiled-coil domain	未同定古細菌 コイルドコイル ドメイン
583	546468	547502	1542910	1541876	829	f-3	546477	547491	366	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
584	547499	547759	1541879	1541619	454	f-2	547538	547757	92	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
585	547830	548183	1541548	1541195	830	f-3	547830	548181	136	GimC	O	Prefoldin	プレフォルジン
586	548218	548553	1541160	1540825	112	f-1	548227	548386	32	Tas	C	Predicted oxidoreductases (related to	推定オキシドレ ダクターゼ (ア リール-アルコ

												aryl-alcohol dehydrogenases)	ールデヒドロゲ ナーゼに関連)
587	548531	549514	1540847	1539864	455	f-2	548531	549509	423	-	R	Exopolyphosphat ase-related proteins	エキソポリホス ファターゼ-関 連タンパク質
588	549515	549850	1539863	1539528	456	f-2	549557	549824	30	Cls	I	Phosphatidylserin e/phosphatidylgly cerophosphate/c ardioli pin synthases and related enzymes	ホスファチジル セリン/ホスファ チジルグリセロ リン酸/カルジ オリピンシンタ ーゼ および 関連酵素
589	550080	551150	1539298	1538228	831	f-3	550164	550494	32	TatA	N	Sec-independent protein secretion pathway components	Sec非依存性タ ンパク質 分泌 経路成分
590	551249	552460	1538129	1536918	457	f-2	551270	552290	74	NrfG	R	TPR-repeat-cont aining proteins	TPR-リピート含 有 タンパク質
591	552309	553043	1537069	1536335	832	f-3	552318	553041	399	-	R	Uncharacterized ArCR (contains C-terminal EMAP domain)	未同定ArCR (C 末端EMAP ドメ インを含む)

592	553133	553699	1536245	1535679	458	f-2	553214	553697	265	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
593	553745	554734	1535633	1534644	2074	r-3	553745	554720	466	MvIM	R	Predicted dehydrogenases and related proteins	推定デヒドロゲナーゼ および関連タンパク質
594	554855	555676	1534523	1533702	459	f-2	554867	555674	401	-	P	Predicted divalent heavy-metal cations transporter	推定二価重金 属カチオントラ ンスポーター
595	555783	556910	1533595	1532468	1757	r-2	555882	556908	419	FtsY	N	Signal recognition particle GTPase	シグナル 認識 粒子 GTPア ーゼ
596	556879	558105	1532499	1531273	1375	r-1	556879	558076	334	-	L	Predicted transposases	推定トランスポ ザーゼ
597	558125	558196	1531253	1531182	2073	r-3							
598	558864	559322	1530514	1530056	1756	r-2	558897	559002	31	-	L	Superfamily I DNA and RNA helicases and helicase subunits	スーパーファミ リー I DNA お よび RNA ヘリ カーゼ および ヘリカーゼ サ ブユニット

599	559506	560798	1529872	1528580	833	f-3	560307	560760	144	Med	N	Surface lipoprotein	表面 リポタン パク質
600	560838	562364	1528540	1527014	834	f-3	560865	562350	525	MgIA	G	ABC-type sugar (aldose) transport system	ABC型糖 (アル ドース) 輸送系
601	562361	563395	1527017	1525983	460	f-2	562454	563390	164	-	R	Uncharacterized ABC-type transport system	未同定ABC型 輸送系
602	563371	564303	1526007	1525075	113	f-1	563407	564241	201	-	R	Uncharacterized ABC-type transport system	未同定ABC型 輸送系
603	564310	565311	1525068	1524067	1374	r-1	564310	565306	276	ZnuA	P	ABC-type Mn/Zn transport system	ABC型Mn/Zn 輸送系
604	565409	567541	1523969	1521837	461	f-2	566648	567164	34	AceE	C	Pyruvate dehydrogenase	ピルビン酸 デ ヒドロゲナーゼ
605	567556	567786	1521822	1521592	1373	r-1	567565	567664	28	-	S	Uncharacterized stress-induced protein	未同定ストレス 誘導性タンパク 質
606	567865	568512	1521513	1520866	1372	r-1	567865	568507	355	-	R	Predicted phosphoryltransferases	推定ホスホリボ シルトランスフェ ラーゼ
607	568711	570129	1520667	1519249	114	f-1	568747	570121	813	-	C	Acyl-CoA synthetase (NDP)	アシル-CoA シ ンセターゼ

621	582573	583445	1506805	1505933	1750	r-2	582573	583443	326	HtpX	O	Zn-dependent protease with chaperone function	シャペロン 機 能を有するZn 依存性プロテア ーゼ
622	583582	585228	1505796	1504150	1368	r-1	583582	585172	854	GroL	O	Chaperonin GroEL (HSP60 family) (Chaperonin A)	シャペロニン GroEL (HSP60 ファミリー)(シャ ペロニンA)
623	585396	586382	1503982	1502996	835	f-3	585717	586377	332	-	T	Mn2+-dependent serine/threonine protein kinase	Mn2+依存性セ リン/スレオニン タンパク質 キ ナーゼ
624	587383	587667	1501995	1501711	1367	r-1	587404	587620	29	TyrB	E	Aspartate/aromat ic aminotransferase	アスパラギン酸 /芳香族アミノ ランスフェラー ゼ
625	588220	589968	1501158	1499410	1366	r-1	588244	589963	615	-	L	MutS-like ATPases involved in mismatch repair	ミスマッチ修復 に関与する MutS様ATPア ーゼ
626	590029	591039	1499349	1498339	1365	r-1	590041	591037	552	LdhA	C H R	Lactate dehydrogenase and related	乳酸デヒドロゲ ナーゼ および 関連デヒドロゲ

635	598695	599399	1490683	1489979	1748	r-2	598704	599283	38	NatB	C	ABC-type Na ⁺ efflux pump	ABC型Na ⁺ イ フラックスポン プ
636	599396	600097	1489982	1489281	2072	r-3	599432	599996	42	-	R	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系
637	600094	600945	1489284	1488433	1362	r-1	600139	600934	281	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系
638	600958	600999	1488420	1488379	1361	r-1							
639	601388	601828	1487990	1487550	467	f-2	601388	601826	188	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合 タンパク質
640	601912	602571	1487466	1486807	1360	r-1	602386	602563	65	-	R	Predicted DNA binding domain	推定DNA 結合 ドメイン
641	602643	603974	1486735	1485404	1747	r-2	602643	603972	762	TldD	R	Predicted Zn-dependent proteases and their inactivated homologs	推定Zn依存性 プロテアーゼ およびその不 活性化ホモログ
642	603976	605406	1485402	1483972	1359	r-1	603985	605404	756	TldD	R	Predicted Zn-dependent proteases and	推定Zn依存性 プロテアーゼ およびその不

												their inactivated homologs	活性化ホモログ
643	605506	605823	1483872	1483555	118	f-1	605530	605815	174	MazG	R	Predicted pyrophosphatase	推定ピロホスフ アターゼ
644	605856	606749	1483522	1482629	1746	r-2	605859	606744	522	-	C	MinD superfamily P-loop ATPase containing an inserted ferredoxin domain	挿入されたフェ レドキシンドメイ ンを含むMinD スーパーファミ リー P-ループ ATPアーゼ
645	606746	607678	1482632	1481700	2071	r-3	606806	607664	427	-	C	MinD superfamily P-loop ATPase containing an inserted ferredoxin domain	挿入されたフェ レドキシンドメイ ンを含むMinD スーパーファミ リー P-ループ ATPアーゼ
646	607678	608625	1481700	1480753	1358	r-1	607678	608620	476	-	C	Fe-S oxidoreductases	Fe-S オキシド レダクターゼ
647	608720	609349	1480658	1480029	468	f-2	608720	609347	295	SmtA	Q R	SAM-dependent methyltransferas es COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼCOG0500 SmtA

648	609665	611200	1479713	1478178	469	f-2	609749	611192	473	PutA	C	NAD-dependent aldehyde dehydrogenases	NAD依存性ア ルデヒドデヒド ロゲナーゼ
649	611281	612924	1478097	1476454	119	f-1	612169	612835	124	FecB	P	ABC-type Fe3+-siderophore s transport systems	ABC型Fe3+-シ デロフオア 輸 送系
650	612921	613868	1476457	1475510	838	f-3	612963	613839	185	BtuC	P H	ABC-type cobalamin/Fe3+- siderophores transport systems	ABC型コバラミ ン/Fe3+-シデロ フオア 輸送系
651	613855	614616	1475523	1474762	120	f-1	613858	614590	160	FepC	P H	ABC-type cobalamin/Fe3+- siderophores transport systems	ABC型コバラミ ン/Fe3+-シデロ フオア 輸送系
652	614613	615374	1474765	1474004	839	f-3	614850	614994	32	-	R	Putative homoserine kinase type II (protein kinase fold)	推定 ホモセリ ン キナーゼ 型 II (タンパク 質 キナーゼ フ ォールド)
653	615379	616116	1473999	1473262	121	f-1	615379	616108	323	-	S	Uncharacterized	未同定ACR

662	622338	623402	1467040	1465976	842	f-3	622377	623397	335	CysA	P	ABC-type sulfate/molybdate transport systems	ABC型硫酸塩/ モリブデン酸塩 輸送系
663	623814	624353	1465564	1465025	1744	r-2	624078	624273	32	ARA1	R	Aldo/keto reductases	アルド/ケトレダ クターゼ
664	624301	624510	1465077	1464868	1354	r-1	624301	624502	70	STE14	O	Putative protein-S-isopre nylcysteine methyltransferase	推定 タンパク 質-S-イソプレ ニルシステイン メチルトランスフ ェラーゼ
665	624735	625205	1464643	1464173	1743	r-2	625065	625146	28	GspD	N	General secretory pathway protein D	一般的分泌経 路タンパク質 D
666	625223	625891	1464155	1463487	471	f-2	625268	625595	146	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
667	625916	626170	1463462	1463208	472	f-2							
668	626202	626936	1463176	1462442	1742	r-2	626232	626790	55	-	R	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系
669	626909	627853	1462469	1461525	2069	r-3	626918	627773	206	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系

670	627832	628989	1461546	1460389	1353	r-1	627964	628603	44	-	S	Uncharacterized proteins of WD40-like repeat family	WD40様リピートファミリーの未同定タンパク質
671	629061	629687	1460317	1459691	1741	r-2	629088	629673	198	SmtA	Q	SAM-dependent methyltransferases COG0500 SmtA	SAM依存性メチルトランスフェラーゼCOG0500 SmtA
672	629684	631024	1459694	1458354	2068	r-3	629684	631022	771	-	R	Predicted membrane components of an uncharacterized iron-regulated ABC-type transporter SufB	未同定鉄-調節ABC型トランスポーター SufBの推定膜成分
673	631021	631839	1458357	1457539	1352	r-1	631099	631822	386	-	R	Iron-regulated ABC transporter ATPase subunit SufC	未同定鉄-調節ABC型トランスポーター SufCの推定膜成分
674	631871	632350	1457507	1457028	473	f-2	631886	632231	196	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
675	632430	632630	1456948	1456748	843	f-3	632430	632625	46	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR

676	632617	633099	1456761	1456279	122	f-1	632617	633070	203	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合タンパク質
677	633112	633933	1456266	1455445	123	f-1	633121	633931	381	-	R	Metal-dependent hydrolases of the beta-lactamase superfamily II	β-ラクタマーゼ スーパーファミリー II の金属依存性ヒドrolラーゼ
678	633964	634764	1455414	1454614	124	f-1	633973	634762	469	FabG	Q R	Dehydrogenases with different specificities (related to short-chain alcohol dehydrogenases) COG1028 FabG	異なる特異性を有するデヒドロゲナーゼ(短鎖アルコールデヒドロゲナーゼに関連する) COG1028 FabG
679	634815	635330	1454563	1454048	1740	r-2	634893	635016	30	DnaX	L	DNA polymerase III	DNA ポリメラーゼIII
680	635934	636071	1453444	1453307	1739	r-2	635982	636060	27	-	C	Uncharacterized Fe-S protein	未同定Fe-S タンパク質
681	637143	637451	1452235	1451927	844	f-3	637329	637425	29	ArtI	E	ABC-type amino acid transport system	ABC型アミノ酸輸送系

682	637487	638062	1451891	1451316	474	f-2	637520	638036	145	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
683	638134	639000	1451244	1450378	1351	f-1	638206	638998	409	-	S	Predicted membrane proteins	推定膜タンパク 質
684	639553	639651	1449825	1449727	125	f-1							
685	639626	640396	1449752	1448982	2067	f-3	639641	640298	219	ChiQ	P	ABC-type cobalt transport system	ABC型コバルト 輸送系
686	640393	641181	1448985	1448197	1350	f-1	640393	641167	299	ChiO	P	ABC-type cobalt transport system	ABC型コバルト 輸送系
687	641204	641923	1448174	1447455	2066	f-3	641438	641909	84	BirA	H	Biotin-(acetyl-Co A carboxylase) ligase	ビオチン-(アセ チル-CoA カル ボキシラーゼ) リガーゼ
688	641972	642490	1447406	1446888	475	f-2	641981	642464	146	BioY	R	Uncharacterized ACR	未同定ACR
689	642511	643098	1446867	1446280	1349	f-1	642511	643081	162	MobA	H	Molybdopterin-gu anine dinucleotide biosynthesis protein A	モリブドプテリン -グアニンジヌク レオチド生合成 タンパク質 A
690	643209	643670	1446169	1445708	845	f-3	643221	643398	31	HHT1	L	Histones H3 and H4	ヒストンH3 およ び H4

691	644598	646496	1444780	1442882	1738	r-2	644598	646488	1164	DAP2	E	Dipeptidyl aminopeptidases/acylaminoacyl-peptidases	Diペプチジルアミノペプチダーゼ/アシルアミノシル-ペプチダーゼ
692	647573	650017	1441805	1439361	476	f-2	647582	650006	1260	-	R	Predicted P-loop ATPase fused to an acetyltransferase	アセチルトランスフェラーゼに融合した推定P-ループATPアーゼ
693	650078	650584	1439300	1438794	477	f-2	650099	650570	241	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
694	650587	651087	1438791	1438291	126	f-1	650656	651073	236	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
695	651198	652340	1438180	1437038	846	f-3	651285	652236	390	TbpA	H	ABC-type iron/thiamine transport systems	ABC型鉄/チアミン 輸送系
696	652343	653548	1437035	1435830	2065	r-3	652400	653513	272	SsnA	F R	Cytosine deaminase and related metal-dependent hydrolases	シトシン デアミナーゼ および関連金属依存性ヒドロラーゼ COG0402 SsnA

697	653784	655079	1435594	1434299	847	f-3	653784	655065	724	AsnS	J	Aspartyl/asparaginyl-tRNA synthetases	アスパルチル/アスパラギニル-tRNA シンセターゼ
698	655937	657688	1433441	1431690	2064	r-3	655958	657119	612	Tgt	J	Queuine/archaeosine tRNA-ribosyltransferase	キューイン/アルケオシン tRNA-リボシルトランスフェラーゼ
699	657722	658642	1431656	1430736	2063	r-3	657722	658622	210	PitA	P	Phosphate/sulphate permeases	リン酸/硫酸塩パーミアーズ
700	658773	659825	1430605	1429553	1737	r-2	658797	659823	362	-	M	Glycosyltransferases	グリコシルトランスフェラーゼ
701	659850	660155	1429528	1429223	1736	r-2	659850	660120	59	-	R	Predicted acetyltransferase	推定アセチルトランスフェラーゼ
702	660246	664418	1429132	1424960	848	f-3	662859	664401	827	Lhr	R	Lhr-like helicases	Lhr様ヘリカーゼ

703	664498	665586	1424880	1423792	127	f-1	664582	665584	608	GapA	G	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase/e rythrose-4-phosphate dehydrogenase	グリセロアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ/エリトロース-4-リン酸デヒドロゲナーゼ
704	665627	665995	1423751	1423383	478	f-2	665753	665900	28	ThrA	E	Homoserine dehydrogenase	ホモセリンデヒドロゲナーゼ
705	666332	666616	1423046	1422762	2062	r-3	666341	666608	120	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
706	666618	667169	1422760	1422209	1735	r-2	666663	667155	258	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
707	667123	667176	1422255	1422202	128	f-1							
708	667218	667724	1422160	1421654	1734	r-2	667332	667629	53	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
709	667824	669488	1421554	1419890	849	f-3	667914	668805	36	-	R	Predicted drug exporters of the RND superfamily	RND スーパーファミリーの推定薬物エクスポーター
710	669735	671918	1419643	1417460	850	f-3	670269	671868	169	-	R	Predicted drug exporters of the RND superfamily	RND スーパーファミリーの推定薬物エクスポーター

													一ター
711	673707	673985	1415671	1415393	851	f-3	673707	673926	32	-	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR
712	674033	674911	1415345	1414467	479	f-2	674039	674858	79	-	R	Predicted permeases	推定パーミアーズ
713	674957	675970	1414421	1413408	480	f-2	674957	675962	570	FrX	G	Cellulase M and related proteins	セルラーゼM および 関連タンパク質
714	676425	677294	1412953	1412084	852	f-3	676440	677232	177	-	R	Predicted ATPase of the AAA superfamily	AAA スーパーファミリーの推定ATPアーゼ
715	677302	678150	1412076	1411228	1348	r-1	677314	678145	374	XerC	L	Integrase	インテグラーゼ
716	678143	679063	1411235	1410315	2061	r-3	678329	678989	45	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
717	679100	679813	1410278	1409565	2060	r-3	679127	679811	161	SfsA	G	Sugar fermentation stimulation protein (uncharacterized)	糖 醗酵 刺激タンパク質 (未同定)
718	679850	679924	1409528	1409454	481	f-2							

719	680156	680470	1409222	1408908	482	f-2	680231	680285	28	-	R	Predicted DNA-binding proteins with PD1-like DNA-binding motif	PD1様DNA結 合モチーフを 伴う推定DNA結 合タンパク質
720	680606	681754	1408772	1407624	483	f-2	680708	681752	617	FrvX	G	Cellulase M and related proteins	セルラーゼM および関連タ ンパク質
721	682401	682496	1406977	1406882	853	f-3							
722	682446	682799	1406932	1406579	1733	r-2	682512	682641	28	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
723	682717	684711	1406661	1404667	129	f-1	682804	684694	883	DinG	L	Rad3-related DNA helicases	Rad3-関連DNA ヘリカーゼ
724	684698	685174	1404680	1404204	2059	r-3	684719	684902	33	-	L	Adenine-specific DNA methylase	アデニン-特異 的DNAメチラ ーゼ
725	686253	686873	1403125	1402505	1732	r-2	686274	686841	135	GlpG	R	Uncharacterized membrane protein (homolog of Drosophila rhomboid)	未同定膜タンパ ク質 (Drosophila rhomboidのホモ ログ)
726	686863	687633	1402515	1401745	1347	r-1		687622	273	SuhB	G	Archaeal	古細菌フルクト

742	702356	703177	1387022	1386201	484	f-2	702356	703175	241	ZnuB	P	systems	ABC型 Mn2+/Zn2+ 輸 送系
743	703152	703868	1386226	1385510	856	f-3	703182	703782	262	RnhB	L	Ribonuclease HII	リボヌクレア ーゼ HII
744	703837	705249	1385541	1384129	1340	r-1	704299	704578	51	PMT1	O	Dolichyl-phospha te-mannose-pro tein O-mannosyl transferase PMT1	ドリキル-リン酸 -マンノース-タ ンパク質 O-マ ンノシルトラン スフェラーゼ PMT1
745	705309	706460	1384069	1382918	857	f-3	705321	706449	537	SmtA	Q R	SAM-dependent methyltransferas es COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼCOG0500 SmtA
746	706455	706655	1382923	1382723	1726	r-2	706455	706650	29	AroB	E	3-dehydroquinat e synthetase	3-デヒドロキニ ン酸 シンセタ ーゼ
747	706739	708556	1382639	1380822	485	f-2	706748	708554	805	GlmS	M	Glucosamine 6-phosphate	グルコサミン 6-リン酸 シン

761	722344	722481	1367034	1366897	1337	r-1	722359	722470	32	VacB	K	ACR	エキソリボヌクレアーゼ
762	722592	723116	1366786	1366262	861	f-3	722595	723087	77	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
763	723142	724314	1366236	1365064	1336	r-1	723160	724303	528				
764	724419	725573	1364959	1363805	1723	r-2	724488	725553	393	HcaD	R	Uncharacterized NAD(FAD)-dependent dehydrogenases	未同定 NAD(FAD)依存性デヒドロゲナーゼ
765	725704	726249	1363674	1363129	133	f-1	725713	726238	271	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク質
766	726458	726643	1362920	1362735	487	f-2	726467	726614	69	RAD55	T	RecA-superfamily ATPases implicated in signal transduction	RecA-スーパーファミリー ATPアーゼ シグナル伝達に関与
767	728745	728798	1360633	1360580	862	f-3							
768	729082	729786	1360296	1359592	1335	r-1	729259	729748	167	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター
769	729844	730989	1359534	1358389	134	f-1	729859	730951	395	PurK	F	Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase	ホスホリボシルアミノイミダゾール カルボキシ

																		(NCAIR synthetase)	ラーゼ (NCAIR シンセターゼ)
770	730961	731485	1358417	1357893	488	f-2	730961	731462	193	PurE	F							Phosphoribosylcarboxyaminoimidazole (NCAIR) mutase	ホスホリボシルカルボキシアミノイミダゾール (NCAIR) ムターゼ
771	731586	733985	1357792	1355393	863	f-3	731799	733923	812	ZntA	P							Cation transport ATPases	カチオン輸送 ATPアーゼ
772	734016	734336	1355362	1355042	864	f-3	734046	734259	50	TrxA	O C							Thiol-disulfide isomerase and thioredoxins COG0526 TrxA	チオール-ジスルフィド イソメラーゼ およびチオレドキシシン COG0526 TrxA
773	734349	734939	1355029	1354439	1722	r-2	734349	734931	238	NfnB	C							Nitroreductase	ニトロレダクタース
774	735215	735760	1354163	1353618	489	f-2	735215	735749	288	NfnB	C							Nitroreductase	ニトロレダクタース
775	735762	735941	1353616	1353437	865	f-3	735798	735924	29	KefB	P							Kef-type K+ transport systems	Kef型K+ 輸送系

776	735965	737146	1353413	1352232	2054	r-3	736043	737078	368	ACR3	P	Arsenite efflux pump ACR3 and related permeases	亜ヒ酸 エフラックスポンプ ACR3 および関連パーミアーズ
777	737210	737683	1352168	1351695	490	f-2	737234	737618	110	Wzb	T	Protein-tyrosine-phosphatase	タンパク質-チロシン-ホスファターゼ
778	737822	739696	1351556	1349682	2053	r-3	737828	739679	1055	-	C	Aldehyde:ferredox in oxidoreductase	アルデヒド:フェレドキシンオキシドレダクターゼ
779	739687	740523	1349691	1348855	1334	r-1	739711	740518	459	ARA1	R	Aldo/keto reductases	アルド/ケトレダクターゼ
780	740584	741294	1348794	1348084	135	f-1	740716	741283	283	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
781	741329	741541	1348049	1347837	491	f-2	741419	741518	27	-	C	Uncharacterized conserved protein containing a ferredoxin-like domain	フェレドキシン様ドメインを含む未同定保存タンパク質
782	741920	742084	1347458	1347294	492	f-2	741944	742076	28	SdrC	T	Predicted secreted protein	PDZ ドメインを含む推定分泌

795	753046	754110	1336332	1335268	139	f-1	753067	754081	386	FecB	P	ABC-type Fe3+-siderophore s transport systems	ABC型Fe3+-シ デロフォア 輸 送系
796	754166	755410	1335212	1333968	2051	r-3	754226	755408	708	-	G	Predicted phosphoglycerate mutase	推定ホスホグリ セリン酸 ムタ ーゼ
797	755496	756431	1333882	1332947	867	f-3	755586	756408	195	ECM2 7	P	Ca2+/Na+ antiporter	Ca2+/Na+ アン チポーター
798	756477	756968	1332901	1332410	868	f-3	756477	756957	304	Hit	F G R	Diadenosine tetraphosphate (Ap4A) hydrolase and other HIT family hydrolases COG0537 Hit	ジアデノシン tetraリン酸 (Ap4A) ヒドロラ ーゼ および 他のHIT ファミ リー ヒドロラー ゼ COG0537 Hit
799	756958	757629	1332420	1331749	1329	r-1	756994	757156	32	-	R	Predicted amidohydrolase	推定アミドヒドロ ラーゼ
800	757712	758458	1331666	1330920	2050	r-3	757733	758453	417	THY1	F	Predicted alternative thymidylate synthase	推定代替チミジ ル酸 シンター ゼ

801	758689	759645	1330689	1329733	140	f-1	758698	759640	549	ArgF	E	Ornithine carbamoyltransferase	オルニチンカルバモイルトランスフェラーゼ
802	759762	760691	1329616	1328687	869	f-3	759762	760689	549	Sun	J	tRNA and rRNA cytosine-C5-methylases	tRNA および rRNA シトシン-C5-メチラーゼ
803	760688	761674	1328690	1327704	2049	r-3	760724	761135	33	HslU	O	ATP-dependent protease	ATP依存性プロテアーゼ
804	762327	763418	1327051	1325960	870	f-3	762327	763383	518	LYS9	E	Saccharopine dehydrogenase and related proteins	サッカロピナーゼ ヒドロゲナーゼ および 関連タンパク質
805	763396	764058	1325982	1325320	141	f-1	763399	764041	323	MraI	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
806	765200	765316	1324178	1324062	2048	r-3							
807	765637	766047	1323741	1323331	142	f-1	765637	766045	238	Efp	J	Translation elongation factor P/translation initiation factor eIF-5A	翻訳 延長因子 P/翻訳 開始因子 eIF-5A
808	766138	766683	1323240	1322695	143	f-1	766195	766504	34	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

809	766685	767974	1322693	1321404	494	f-2	766703	767969	542	ArsB	P	Na ⁺ /H ⁺ antiporter NhaD and related arsenite permeases	Na ⁺ /H ⁺ アンチ ポーター NhaD および 関連亜 ヒ酸パーミア ー ゼ
810	767976	768434	1321402	1320944	871	f-3	767985	768432	223	UspA	T	Universal stress protein UspA and related nucleotide-bindin g proteins	ユニバーサル ストレスタンパ ク質 UspA お よび 関連ヌク レオチド結合 タ ンパク質
811	768477	769343	1320901	1320035	872	f-3	768486	769323	387	SpeB	E	Arginase/agmatin ase/formimionogl utamate hydrolase	アルギナーゼ/ アグマチナーゼ /ホルムイミノグ ルタミン酸 ヒド ロラーゼ
812	769459	769962	1319919	1319416	144	f-1	769459	769954	190	-	R	CBS domains	CBS ドメイン
813	769950	771269	1319428	1318109	873	f-3	770010	771258	553	KefB	P	Kef-type K ⁺ transport systems	Kef型K ⁺ 輸送 系
814	771283	771807	1318095	1317571	1328	r-1	771334	771469	31	ZntA	P	Cation transport ATPases	カチオン輸送 ATPアーゼ

815	771820	773541	1317558	1315837	145	f-1	772069	773122	177	EriC	P	Chloride channel protein EriC	塩化物イオンチャネルタンパク質 EriC
816	773543	774817	1315835	1314561	495	f-2	773552	774800	647	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
817	774838	775089	1314540	1314289	146	f-1	774847	775066	52	AbrB	K	Regulators of stationary/sporulation gene expression	定常期/胞子形成遺伝子発現のレギュレーター
818	775493	776422	1313885	1312956	496	f-2	775493	776399	327	ThiL	H	Thiamine monophosphate kinase	チアミンーリン酸 キナーゼ
819	776480	777643	1312898	1311735	497	f-2	776480	777614	382	RfaG	M	Predicted glycosyltransferases	推定グリコシルトランスフェラーゼ
820	778176	778346	1311202	1311032	874	f-3	778176	778329	62	CDA1	G	Predicted xylanase/chitin deacetylase	推定キシラナーゼ/キシリン デアセチラーゼ
821	778362	779411	1311016	1309967	875	f-3	778362	779409	622	PflA	O	Pyruvate-formate lyase-activating enzyme	ピルビン酸-蟻酸塩 リアーゼ活性化 酵素
822	779336	780247	1310042	1309131	498	f-2	779384	779564	32	-	R	Uncharacterized protein	未同定タンパク質

823	780438	782276	1308940	1307102	876	f-3	782085	782205	34	-	L	Archaea-specific RecJ-like exonuclease	古細菌特異的 RecJ様エキソヌ クレアーゼ
824	782329	783108	1307049	1306270	147	f-1	782773	782986	29	Ggt	E	Gamma-glutamylt ranspeptidase	γ-グルタミルト ランスペプチダ ーゼ
825	783098	784927	1306280	1304451	2047	r-3	783182	784919	922	-	C	Uncharacterized Fe-S oxidoreductases	未同定Fe-S オ キシドレダクタ ーゼ
826	785382	786104	1303996	1303274	1719	r-2	785382	786081	310	KsgA	J	Dimethyladenosin e transferase (rRNA methylation)	ジメチルアデノ シン トランスフ エラーゼ (rRNA メチル化)
827	786218	786838	1303160	1302540	2046	r-3	786218	786833	337	-	J	Predicted RNA-binding protein	推定RNA結合 タンパク質
828	786930	787286	1302448	1302092	1718	r-2	786936	787230	135	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
829	787283	787609	1302095	1301769	2045	r-3	787313	787604	189	RPL21 A	J	Ribosomal protein L21E	リボソーム タン パク質 L21E
830	787749	788930	1301629	1300448	1717	r-2	787749	788916	492	-	J	Predicted pseudouridylylate synthase	推定プソイドウ リジル酸 シンタ ーゼ

831	788975	789268	1300403	1300110	499	f-2	788975	789266	138	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
832	789317	789460	1300061	1299918	2044	r-3	789350	789440	27	Rfe	M	UDP-N-acetylmu ramyl pentapeptide phosphotransfera se/UDP-N- acetylglucosamin e-1-phosphate transferase	UDP-N-アセチ ルムラミルペン タペプチド ホス ホトランスフェラ ーゼ/UDP-N- アセチルグルコ サミン-1-リン酸 トランスフェラー ゼ
833	789852	790022	1299526	1299356	1716	r-2	789855	789993	56	Nfi	L	Deoxyinosine 3'endonuclease (endonuclease V)	デオキシイノシ ン 3'エンドヌク レアーゼ (エン ドヌクレアーゼ V)
834	790438	791058	1298940	1298320	1327	r-1	790438	791038	264	-	L	Translin (RNA-binding protein)	トランスリン (RNA結合 タン パク質)
835	790672	790737	1298706	1298641	148	f-1							

836	791117	792469	1298261	1296909	500	f-2	791156	792467	683	AnsB	E	L-asparaginase/archaeal Glu-tRNA ^{Gln} amidotransferase subunit D COG0252 AnsB	L-アスパラギナーゼ/古細菌 Glu-tRNA ^{Gln} アミドトランスフェラーゼ サブユニット D COG0252 AnsB
837	792505	792675	1296873	1296703	149	f-1	792505	792610	34	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
838	792665	793114	1296713	1296264	501	f-2	792665	793079	77	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合タンパク質
839	793111	795000	1296267	1294378	150	f-1	793111	794998	997	GatE	J	Archaeal Glu-tRNA ^{Gln} amidotransferase subunit E (contains GAD domain)	古細菌 Glu-tRNA ^{Gln} アミドトランスフェラーゼ サブユニット E (GAD ドメインを含む)
840	795038	795544	1294340	1293834	502	f-2	795356	795491	34	FtsW	D	Bacterial cell division membrane protein	細菌細胞分裂膜タンパク質

841	796310	797536	1293068	1291842	2043	r-3	796310	797534	710	HMG1	I	Hydroxymethylglu taryl-CoA reductase	ヒドロキシメチ ルグルタリル -CoALレダクター ゼ
842	797552	798316	1291826	1291062	2042	r-3	797570	798311	335	-	D	ATPases involved in chromosome partitioning	染色体分画化 に關与するATP アーゼ
843	798473	799534	1290905	129844	503	f-2	798482	799517	596	Tdh	E R	Threonine dehydrogenase and related Zn-dependent dehydrogenases COG1063 Tdh	スレオニン デ ヒドロゲナーゼ および 關連Zn 依存性デヒドロ ゲナーゼ COG1063 Tdh
844	799610	799858	1289768	1289520	504	f-2	799625	799838	55	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
845	799848	800327	1289530	1289051	877	f-3	799848	800325	91	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合 タンパク質
846	800324	800425	1289054	1288953	2041	r-3	800324	800402	26	Uup	R	ATPase components of ABC transporters with duplicated ATPase domains	二重ATPアー ゼドメインを有 するABC トラン スポーターの ATPアーゼ成

853	805220	806068	1284158	1283310	507	f-2	805265	806051	266	TruA	J	Pseudouridylylate synthase (tRNA psi55)	プソイドウリジ ル酸 シンター ゼ (tRNA psi55)
854	806024	807415	1283354	1281963	2039	r-3	806030	807359	722	SSL2	L	DNA or RNA helicases of superfamily II	スーパーファミ リー IIのDNAま たは RNA ヘリ カーゼ
855	807366	808745	1282012	1280633	880	f-3	807480	808743	673	UbiD	H	3-polyprenyl-4-hydroxybenzoate decarboxylase and related decarboxylases	3-ポリプレニル -4-ヒドロキシ 安息香酸デカ ルボキシラーゼ および 関連デ カルボキシラー ゼ
856	808746	809576	1280632	1279802	1715	r-2	808875	809043	30	RimI	R	Acetyltransferase s	アセチルトラン スフェラーゼ
857	810847	811266	1278531	1278112	1326	r-1	810856	811252	127	-	L	Predicted transposase	推定トランスポ ザーゼ
858	811367	811606	1278011	1277772	508	f-2	811391	811532	30	Hfq	R	Uncharacterized ACR	未同定ACR
859	811608	812351	1277770	1277027	881	f-3	811620	812340	392	MobB	H	Molybdopterin-guanine dinucleotide	モリブドプテリン -グアニンジヌク

866	818623	819468	1270755	1269910	155	f-1	818650	819301	49	NosY	R	ABC-type transport system involved in multi-copper enzyme maturation	多重銅酵素成熟に関与するABC型輸送系
867	819475	820395	1269903	1268983	156	f-1	819475	820381	317	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸送系
868	820410	821180	1268968	1268198	1714	r-2	820458	821160	412	-	C	Acyl-CoA synthetase (NDP forming)	アシル-CoA シンセターゼ (NDP 形成)
869	821146	822570	1268232	1266808	1325	r-1	821146	822553	724	-	C	Acyl-CoA synthetase (NDP forming)	アシル-CoA シンセターゼ (NDP 形成)
870	822810	823514	1266568	1265864	1713	r-2	822810	823500	395	-	R	Predicted nucleotidyltransferase	推定ヌクレオチジルトランスフェラーゼ
871	823599	824021	1265779	1265357	885	f-3	823815	823947	29	ARA1	R	Aldo/keto reductases	アルド/ケトレダクターゼ
872	824015	825196	1265363	1264182	2038	r-3	824069	825182	278	NrfG	R	TPR-repeat-containing proteins	TPR-リピート含有タンパク質

873	825266	826294	1264112	1263084	2037	r-3	825275	826289	485	SUA5	J	Putative translation factor (SUA5)	推定 翻訳 因子(SUA5)
874	826379	827413	1262999	1261965	2036	r-3	826379	827411	358	RfaG	M	Predicted glycosyltransferases	推定グリコシルトランスフェラーゼ
875	827435	828904	1261943	1260474	2035	r-3	827453	828887	543	AsnB	E	Asparagine synthase (glutamine-hydrolyzing)	アスパラギンシンターゼ (グルタミン-加水分解)
876	828985	829728	1260393	1259650	1324	r-1	828985	829720	355	-	R	GTPases	GTPアーゼ
877	829725	830471	1259653	1258907	1712	r-2	829734	830466	361	-	D	ATPases involved in chromosome partitioning	染色体分画化に関与するATPアーゼ
878	830551	832368	1258827	1257010	157	f-1	830560	832363	924	-	R	ATPases of the PilT family	PilT ファミリーのATPアーゼ
879	832337	833035	1257041	1256343	509	f-2	832469	833018	196	Maf	D	Nucleotide-binding protein implicated in inhibition of septum formation	ヌクレオチド結合タンパク質、隔膜形成の疎外に関与する

880	836010	837260	1253368	1252118	1711	r-2	836019	837258	744	GCD1	M	Nucleoside-diphosphate-sugar pyrophosphorylases involved in lipopolysaccharide biosynthesis/translation initiation factor eIF2B subunits COG1208 GCD1	リボポリリサッカ リド生成に関 与するヌクレオ シド-ジリン酸- 糖ピロホスホリ ラーゼ/翻訳 開始因子eIF2B サブユニット COG1208 GCD1
881	837335	837601	1252043	1251777	2034	r-3	837341	837458	35	MCM2	L	Predicted ATPase involved in replication control	複製制御に関 与する推定ATP アーゼ
882	837647	839638	1251731	1249740	2033	r-3	837677	839612	820	FeoB	P	Ferrous ion uptake system protein FeoB (predicted GTPase)	鉄(II)イオン取 り込み 系タン パク質 FeoB (推定GTPアー ゼ)
883	839649	839885	1249729	1249493	1710	r-2	839664	839883	83	FeoA	P	Protein	タンパク質

884	840097	840471	1249281	1248907	158	f-1	840103	840271	29	Rfe	M	UDP-N-acetylmu ramyl pentapeptide phosphotransfera se/UDP-N- acetylglucosamin e-1-phosphate transferase	UDP-N-アセチ ルムラミルペン タペプチド ホス ホトランスフェラ ーゼ/UDP-N- アセチルグルコ サミン-1-リン酸 トランスフェラー ゼ
885	840503	841321	1248875	1248057	510	f-2	840503	841277	389	MesJ	D	Predicted ATPase of the PP-loop superfamily implicated in cell cycle control	推定ATPアー ゼ of the PP-ル ープス-パーフ ァミリー、細胞 周期制御に関 与する
886	841293	842288	1248085	1247090	886	f-3	841305	842244	209	HypE	O	Hydrogenase maturation factor	ヒドロゲナーゼ 成熟因子
887	842275	842628	1247103	1246750	159	f-1	842377	842617	50	-	R	Predicted nucleotidyltransfe rases	推定ヌクレオチ ジルトランスフェ ラーゼ
888	842986	844059	1246392	1245319	1323	r-1	843040	843955	457	-	R	Predicted RNA-binding proteins	推定RNA結合 タンパク質

919	870532	870840	1218846	1218538	164	f-1	870586	870769	29	OppF	E	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport system	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
920	870842	871846	1218536	1217532	517	f-2	870851	871838	451	ArsA	P	Arsenite transporting ATPase	亜ヒ酸 輸送ing ATPアーゼ
921	871836	872120	1217542	1217258	892	f-3	871845	872079	38	PaaD	R	Putative aromatic ring hydroxylating enzyme	推定 芳香族環 水酸化酵素
922	871942	872775	1217436	1216603	165	f-1	872578	872758	33	Smc	D	Chromosome segregation ATPases	染色体分離 ATPアーゼ
923	872833	873117	1216545	1216261	166	f-1	872863	873061	50	AbrB	K	Regulators of stationary/sporul ation gene expression	定常期/胞子形 成 遺伝子発現 のレギュレータ ー
924	873524	874306	1215854	1215072	518	f-2	873530	874292	400	PldB	I	Lysophospholipas e	リゾホスホリパ ーゼ
925	874707	874940	1214671	1214438	893	f-3	874749	874902	26	-	D	Intracellular septation protein A	細胞内隔膜タン パク質 A
926	875022	875840	1214356	1213538	894	f-3	875025	875277	33	ValS	J	Valyl-tRNA	バリル-tRNA

927	875837	876856	1213541	1212522	2029	r-3	875837	876854	603	PurA	F	Adenylosuccinate synthase	シンセターゼ アデニロコハク酸 シンターゼ
928	877020	877235	1212358	1212143	895	f-3	877107	877197	31	Hmp	C	Flavodoxin reductases (ferredoxin-NADPH reductases) family 1	フラボドキシン レダクターゼ (フェレドキシン -NADPHレダク ターゼ) ファミリ ー 1
929	877271	878197	1212107	1211181	519	f-2	877274	878180	435	WcaG	M G	Nucleoside-diphosphate-sugar epimerases COG0451 WcaG	ヌクレオシド-ジ リン酸-糖 エピ メラーゼ COG0451 WcaG
930	878209	878658	1211169	1210720	1315	r-1	878317	878650	145	GIM5	O	Predicted prefoldin	推定プレフォル ジン
931	878718	878765	1210660	1210613	896	f-3							
932	878886	879182	1210492	1210196	897	f-3							
933	879211	880500	1210167	1208878	167	f-1	879229	880453	249				
934	880506	881387	1208872	1207991	898	f-3	880518	881385	365	EutG	C	Alcohol dehydrogenase IV	アルコールデヒ ドロゲナーゼ IV

935	881550	881654	1207828	1207724	899	f-3	881550	881646	43	EutG	C	Alcohol dehydrogenase IV	アルコールデヒ ドロゲナーゼ IV
936	882812	882925	1206566	1206453	2028	r-3							
937	885694	886539	1203684	1202839	1314	r-1	885694	886495	110				
938	886567	887178	1202811	1202200	1313	r-1	886657	887176	174				
939	887275	887487	1202103	1201891	168	f-1	887284	887434	40	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
940	887717	887920	1201661	1201458	520	f-2	887720	887915	54	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合 タンパク質
941	887924	890701	1201454	1198677	521	f-2	887924	890642	1093	Lhr	R	Lhr-like helicases	Lhr様ヘリカー ゼ
942	891114	891398	1198264	1197980	900	f-3	891159	891396	31	Nfo	L	Endonuclease IV	エンドヌクレア ーゼ IV
943	891434	895009	1197944	1194369	522	f-2	891443	894968	1392	Smc	D	Chromosome segregation ATPases	染色体分離 ATPアーゼ
944	895013	895678	1194365	1193700	523	f-2	895022	895667	248	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
945	895675	896097	1193703	1193281	1312	r-1	895888	896050	30	AcyP	C	Acylphosphatase s	アシルホスファ ターゼ
946	896626	899040	1192752	1190338	169	f-1	896632	898126	684	MPH1	L	ERCC4-like	ERCC4様ヘリカ

												helicases	一ゼ
947	899156	900004	1190222	1189374	2027	r-3	899165	899987	342	DppA	E	Uncharacterized protein associated with dipeptide transport	ジペプチド輸送に関連する未同定タンパク質
948	900134	900385	1189244	1188993	524	f-2	900230	900314	30	MglA	G	ABC-type sugar (aldose) transport system	ABC型糖 (アルドース) 輸送系
949	901696	902574	1187682	1186804	1311	r-1	901891	901987	30	TenA	K	Putative transcription activator	推定転写アクチベーター
950	902700	903458	1186678	1185920	1704	r-2	902703	903450	387	-	R	Predicted phosphate-binding enzymes	推定リン酸結合酵素
951	903912	904115	1185466	1185263	1703	r-2	903912	904077	45	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
952	904127	904555	1185251	1184823	2026	r-3	904127	904520	173	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
953	904610	905026	1184768	1184352	525	f-2	904871	904967	28	TFA1	K	Transcription initiation factor IIE	転写開始因子 IIE

954	905105	906898	1184273	1182480	526	f-2	905105	906887	998	-	R	RNase L inhibitor homolog	RNアーゼL インヒビター ホモログ
955	906982	907974	1182396	1181404	170	f-1	906994	907963	387	HypE	O	Hydrogenase maturation factor	ヒドロゲナーゼ成熟因子
956	907975	908217	1181403	1181161	1310	r-1	907975	908215	98	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
957	908370	909260	1181008	1180118	1702	r-2	908463	909246	221	-	L	Predicted type IV restriction endonuclease	推定型 IV 制限エンドヌクレアーゼ
958	909301	910116	1180077	1179262	171	f-1	909313	910093	189	-	R	Predicted glutamine amidotransferase	推定グルタミンアミドトランスフェラーゼ
959	910097	910516	1179281	1178862	527	f-2	910106	910514	190	-	R	CBS domains	CBS ドメイン
960	910513	912024	1178865	1177354	172	f-1	910531	912016	744	lcc	R	Predicted phosphohydrolase	推定ホスホヒドローゼ
961	912021	912893	1177357	1176485	1701	r-2	912021	912879	311	-	G	2-Phosphoglycerate kinase	2-ホスホグリセリン酸 キナーゼ
962	912890	914188	1176488	1175190	2025	r-3	913589	913814	45	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
963	914305	914493	1175073	1174885	173	f-1	914389	914491	27	HHT1	L	Histones H3 and	ヒストンH3 およ

													H4	び H4
964	914711	915121	1174667	1174257	528	f-2	914711	915119	153	ArsR	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュ レーター	
965	915118	916428	1174260	1172950	174	f-1	915148	915403	37	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR	
966	916589	917257	1172789	1172121	529	f-2	916604	917246	142	-	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR	
967	917348	918352	1172030	1171026	530	f-2	917357	918311	400					
968	918655	918705	1170723	1170673	1309	r-1								
969	918719	919171	1170659	1170207	2024	r-3	918779	919163	149	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR	
970	919305	923264	1170073	1166114	901	f-3	920052	920499	60	-	L	Micrococcal nuclease (thermonuclease) homologs	マイクロコカスヌ クレアーゼ(サ ーモヌクレア ーゼ) ホモログ	
971	924116	924814	1165262	1164564	2023	r-3	924128	924773	140	RAD55	T	RecA-superfamily ATPases implicated in signal transduction	RecA-スーパー ファミリー ATP アーゼ i、シグ ナル伝達に関 与	
972	925010	927244	1164368	1162134	531	f-2	925019	926708	1043	MetG	J	Methionyl-tRNA synthetase	メチオニル -tRNA シンセ	

973	927249	927578	1162129	1161800	1700	r-2	927339	927576	92	-	S	Uncharacterized membrane-associated protein/domain	未同定膜合 タンパク質/ドメ イン
974	928257	929309	1161121	1160069	1699	r-2	928353	929178	45	SbcC	L	ATPase involved in DNA repair	DNA修復に関 与するATPアー ゼ
975	929424	929705	1159954	1159673	1698	r-2	929538	929697	33	Dcp	E	Zn-dependent oligopeptidases	Zn依存性オリゴ ペプチダーゼ
976	930480	931013	1158898	1158365	1697	r-2	930486	930996	219	WecD	K R	Histone acetyltransferase HPA2 and related acetyltransferase s COG0454 WecD	ヒストンアセチ ルトランスフェラ ーゼ HPA2 お よび 関連アセ チルトランスフ ェラーゼ COG0454 WecD
977	931103	931576	1158275	1157802	532	f-2	931145	931556	147	Bcp	O	Peroxioredoxin	ペロキシレドキ シン
978	931594	932070	1157784	1157308	175	f-1	931651	932068	190	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

979	932526	933086	1156852	1156292	902	f-3	932535	933084	180	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
980	933128	933430	1156250	1155948	533	f-2	933128	933428	153	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
981	933728	933904	1155650	1155474	534	f-2	933779	933902	32	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
982	933919	934392	1155459	1154986	1308	r-1	933925	934387	75	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
983	934564	935379	1154814	1153999	176	f-1	934612	935371	180	MscS	M	Small-conductance mechanosensitive channel	小コンダクタンス機械感受性チャネル
984	935513	936664	1153865	1152714	2022	r-3	935549	936659	541	-	R	Predicted Fe-S oxidoreductases	推定Fe-S オキシドレダクターゼ
985	936666	936944	1152712	1152434	1696	r-2	936696	936942	94	MoaD	H	Molybdopterin converting factor	モリブドプテリン転換因子
986	936987	938822	1152391	1150556	1695	r-2	937005	938814	977	-	C	Aldehyde:ferredox in oxidoreductase	アルデヒド:フェレドキシンオキシドレダクターゼ
987	938954	940192	1150424	1149186	535	f-2	938969	940178	572	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

996	944542	944994	1144836	1144384	1306	r-1	944542	944992	263	RpsL	J	Ribosomal protein S12	リボソームタンパク質 S12
997	944996	945436	1144382	1143942	2019	r-3	944999	945434	255	NusA	K	Transcription terminator	転写ターミネーター
998	945433	945741	1143945	1143637	1305	r-1	945436	945727	145	RPL30	J	Ribosomal protein L30E	リボソームタンパク質 L30E
999	945755	946939	1143623	1142439	2018	r-3	945764	946931	652	RpoC	K	DNA-directed RNA polymerase beta' subunit/160 kD subunit (split gene in archaea and Syn)	DNA指向性 RNA ポリメラーゼ β' サブユニット/160 kD サブユニット (古細菌における split 遺伝子および Syn)
1000	946932	948164	1142446	1141214	1693	r-2	947001	948162	674	RpoC	K	DNA-directed RNA polymerase beta' subunit/160 kD subunit (split gene in archaea and Syn)	DNA指向性 RNA ポリメラーゼ β' サブユニット/160 kD サブユニット (古細菌における split 遺伝子および Syn)

1001	948079	949662	1141299	1139716	1304	r-1	948088	949645	961	RpoC	K	DNA-directed RNA polymerase beta' subunit/160 kD subunit (split gene in archaea and Syn)	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼβ' サブユニ ット/160 kD サ ブユニット (古 細菌における split 遺伝子お よび Syn)
1002	949659	953030	1139719	1136348	1692	r-2	949665	953028	1967	RpoB	K	DNA-directed RNA polymerase beta subunit/140 kD subunit (split gene in Mjan)	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼβ サブユニ ット/140 kD サ ブユニット (Mjanにおける split 遺伝子)
1003	953048	953296	1136330	1136082	2017	r-3	953048	953294	118	RPB5	K	DNA-directed RNA polymerase	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼ
1004	953495	954190	1135883	1135188	2016	r-3	953510	954185	408	TrxA	O C	Thiol-disulfide isomerase and thioredoxins COG0526 TrxA	チオール-ジス ルフィド イソメ ラーゼ および チオレドキシ ン COG0526 TrxA

1005	954301	955020	1135077	1134358	177	f-1	954316	955009	290	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
1006	955204	956391	1134174	1132987	178	f-1	955213	956347	629	FixC	C	Dehydrogenases (flavoproteins)	デヒドロゲナーゼ (フラビンタンパク質)
1007	956375	956533	1133003	1132845	2015	r-3	956402	956498	26	-	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR
1008	957270	957638	1132108	1131740	906	f-3	957477	957579	28	-	R	Predicted integral membrane protein	推定内在性膜タンパク質
1009	957640	961329	1131738	1128049	1303	r-1	957649	958597	493	TopA	L	Topoisomerase IA	トポイソメラーゼ IA
1010	961407	962324	1127971	1127054	907	f-3	961689	961947	35	FepC	P	ABC-type cobalamin/Fe3+-siderophores transport systems	ABC型コバラミン/Fe3+-シデロフォア 輸送系
1011	962372	962575	1127006	1126803	537	f-2	962372	962573	108	ThiS	H	Sulfur transfer protein involved in thiamine biosynthesis	硫黄転移タンパク質、チアミン合成に関与
1012	962593	963804	1126785	1125574	1302	r-1	962605	963799	691	AvtA	E	PLP-dependent aminotransferase	PLP依存性アミノトランスフェラー

1028	976234	976803	1113144	1112575	1299	r-1	976240	976795	340	-	G	Thermophilic glucose-6-phosph hate isomerase and related metalloenzymes COG2140 -	好熱性グルコ ース-6-リン酸 イソメラーゼ お よび 関連メタロ 酵素COG2140 -
1029	976871	977053	1112507	1112325	2014	r-3	976880	977042	59	NusA	K	Transcription terminator	転写ターミネー ター
1030	977082	977765	1112296	1111613	1689	r-2	977082	977730	174	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1031	977762	978706	1111616	1110672	2013	r-3	977762	978671	401	ElaC	R	Metal-dependent hydrolases of the beta-lactamase superfamily III	β-ラクタマー ゼ スーパーファ ミリー IIの金 属依存性ヒドロ ラーゼ1
1032	978776	979747	1110602	1109631	540	f-2	978791	979706	234	NrfG	R	TPR-repeat-cont aining proteins	TPR-リピート含 有 タンパク質
1033	979826	981100	1109552	1108278	541	f-2	979841	981095	488	TrmA	J	SAM-dependent methyltransferas es related to tRNA (uracil-5-)-methy ltransferase	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼ関連to tRNA (ウラシル -5-)-メチルトラ ンスフェラーゼ

1034	981159	981425	1108219	1107953	1688	r-2	981168	981357	28	DapD	E	Tetrahydrodipicolinate N-succinyltransferase	テトラヒドロジピ コリン酸N-スク シニルトランス フェラーゼ
1035	981762	981815	1107616	1107563	1687	r-2							
1036	982136	982483	1107242	1106895	542	f-2	982136	982481	168	-	H	6-pyruvoyl-tetra hydropterin synthase	6-ピルピル-テ トラヒドロプテリ ン シンターゼ
1037	982480	982953	1106898	1106425	1298	r-1	982480	982822	142	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1038	983025	983486	1106353	1105892	912	f-3	983058	983460	115	GIM5	O	Predicted prefoldin	推定プレフォル ジン
1039	983483	983821	1105895	1105557	543	f-2	983516	983723	35	GimC	O	Prefoldin	プレフォルジン
1040	983802	984371	1105576	1105007	1686	r-2	983802	984354	278	PorG	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredoxin oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ

1041	934359	985399	1105019	1103979	2012	r-3	984554	985397	537	PorB	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ
1042	985204	986352	1104174	1103026	1297	r-1	985204	986338	639	PorA	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ
1043	986349	986912	1103029	1102466	1685	r-2	986400	986904	284	PorG	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ

1044	986851	987246	1102527	1102132	1296	r-1	986935	987235	96	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR	ゼ
1045	987243	987566	1102135	1101812	1684	r-2	987297	987375	32	-	R	Predicted nucleotidyltransferases	推定ヌクレオチ ジルトランスフェ ラーゼ	
1046	987517	988383	1101861	1100995	1295	r-1	987517	988369	501	PorB	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ	
1047	988383	989573	1100995	1099805	1683	r-2	988383	989571	743	PorA	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ	

1048	989577	989894	1099801	1099484	1682	r-2	989577	989877	125	-	C	Ferredoxin 3	シドレダクター ゼ
1049	990762	991511	1098616	1097867	913	f-3	991125	991500	33	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	フェレドキシン3 ABC型多剤輸 送系
1050	991803	991991	1097575	1097387	914	f-3							
1051	992036	993010	1097342	1096368	2011	r-3	992042	993002	446	-	R	Predicted Fe-S oxidoreductases	推定Fe-S オキ シドレダクター ゼ
1052	994241	995020	1095137	1094358	544	f-2	994241	994985	244	SurE	R	Survival protein	生存タンパク質
1053	995047	995112	1094331	1094266	184	f-1							
1054	995380	995844	1093998	1093534	185	f-1	995419	995779	78	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
1055	995878	996558	1093500	1092820	1294	r-1	995881	996550	278	SpoVK	O	ATPases of the AAA+ class	AAA+ クラスの ATPアーゼ
1056	997037	998464	1092341	1090914	545	f-2	997097	998456	785	SerS	J	Seryl-tRNA synthetase	Seryl-tRNA シ ンセターゼ
1057	998525	999265	1090853	1090113	2010	r-3	998588	999200	298	Nth	L	Predicted EndoIII-related endonuclease	推定EndoIII-関 連エンドヌクレ アーゼ

1058	999750	1000229	1089628	1089149	915	f-3	999843	1000212	168	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
1059	1000226	1001212	1089152	1088166	546	f-2	1000235	1001201	503	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸送系
1060	1001217	1001987	1088161	1087391	916	f-3	1001217	1001982	355	-	R	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸送系
1061	1002002	1003240	1087376	1086138	2009	r-3	1002005	1003226	590	Pgk	G	3-phosphoglycerate kinase	3-ホスホグリセリン酸 キナーゼ
1062	1003253	1005466	1086125	1083912	547	f-2	1003355	1003715	40	Mrr	L	Restriction endonuclease	制限エンドヌクレアーゼ
1063	1005467	1006087	1083911	1083291	2008	r-3	1005581	1005884	38	LeuA	E	Isopropylmalate/homocitrate/citramalate synthases	イソプロピルリノゴ酸/ホモクエン酸/シトラリノゴ酸 シンターゼ
1064	1006202	1007890	1083176	1081488	2007	r-3	1006202	1007888	1040	Sbm	I	Methylmalonyl-CoA mutase	メチルマロニル-CoA ムターゼ
1065	1007979	1010192	1081399	1079186	1681	r-2	1008876	1009398	41	AlsD	H	Glutamate-1-semialdehyde	グルタミン酸-1-セミアルデ

												heat shock protein)	ツクタンパク質)
1071	1013995	1014411	1075383	1074967	1293	r-1	1014265	1014361	30	FlgD	N	Flagellar hook capping protein	鞭毛 フック キ ヤッピンゲンタン パク質
1072	1014829	1017228	1074549	1072150	187	f-1	1014829	1017226	1310	SpoVK	O	ATPases of the AAA+ class	AAA+ クラスの ATPアーゼ
1073	1017331	1020711	1072047	1068667	188	f-1	1018411	1018645	56	-	L	Type II restriction enzyme	型 II 制限酵素
1074	1020821	1020970	1068557	1068408	2004	r-3	1020854	1020962	26	-	R	Predicted hydrolase of alkaline phosphatase superfamily	アルカリホスフ アターゼ スー パーファミリー の推定ヒドロラ ーゼ
1075	1021424	1022338	1067954	1067040	550	f-2	1021535	1022261	177	FolP	H	Dihydropteroate synthase	ジヒドロプテリン 酸 シンターゼ
1076	1022319	1023311	1067059	1066067	1680	r-2	1022328	1023294	249	PerM	R	Predicted permease	推定パーミアー ゼ
1077	1023301	1023780	1066077	1065598	1292	r-1	1023463	1023637	32	TldD	R	Predicted Zn-dependent proteases and their inactivated homologs	推定Zn依存性 プロテアーゼ およびその不 活性化ホモログ

1078	1023781	1024785	1065597	1064593	1291	r-1	1023781	1024759	278	SppA	N	Periplasmic O serine proteases (ClpP class) COG0616 SppA	ペリプラスムセ リン プロテアー ゼ (ClpP クラ ス) COG0616 SppA
1079	1024877	1025692	1064501	1063686	551	f-2	1024886	1025681	417	IoIE	G	Sugar phosphate isomerases/epim erases	糖 リン酸 イソ メラーゼ/エピメ ラーゼ
1080	1025682	1026086	1063696	1063292	1679	r-2	1025892	1026018	29	LeuB	E	Isocitrate/isoprop ylmalate dehydrogenase	イソクエン酸/イ ソプロピルリン ゴ酸デヒドロゲ ナーゼ
1081	1026083	1026376	1063295	1063002	2003	r-3	1026122	1026374	146	RPB11	K	DNA-directed RNA polymerase	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼ
1082	1026357	1026986	1063021	1062392	1678	r-2	1026357	1026984	248	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1083	1026983	1027579	1062395	1061799	2002	r-3	1026986	1027571	280	-	J	Predicted RNA-binding protein (consists of S1 domain and a Zn-ribbon domain)	推定RNA結合 タンパク質 (S1 ドメインおよび Zn-リボンドメイ ンからなる)

1084	1027657	1029558	1061721	1059820	189	f-1	1027678	1029556	1040	ThrS	J	Threonyl-tRNA synthetase	トレオニル-tRNA シンセターゼ
1085	1029517	1030068	1059861	1059310	1290	r-1	1029589	1029943	34	HsdM	L	Type I restriction-modification system methyltransferase subunit	I型制限-修飾系メチルトランスフェラーゼサブユニット
1086	1030276	1030950	1059102	1058428	1289	r-1	1030711	1030900	32	UvrC	L	Nuclease subunit of the excinuclease complex (TBP-interacting protein)	エキシヌクレアーゼ複合体のヌクレアーゼサブユニット(TBP相互作用タンパク質)
1087	1031013	1031807	1058365	1057571	1677	r-2	1031013	1031805	431	UppS	I	Undecaprenyl pyrophosphate synthase	ウンデカプレニルピロリン酸シンターゼ
1088	1031814	1032344	1057564	1057034	1676	r-2	1031823	1032336	291	PaaY	R	Carbonic anhydrases/acyltransferases	炭酸脱水酵素/アセチルトランスフェラーゼ
1089	1032406	1032792	1056972	1056586	190	f-1	1032412	1032781	137	-	L	Holliday junction resolvase - archaeal type	ホリデイ 接合部 レゾルバーゼ - 古細菌型

1090	1032841	1034373	1056537	1055005	191	f-1	1032913	1033582	45	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
1091	1034458	1035498	1054920	1053880	192	f-1	1034458	1035493	551	FrvX	G	Cellulase M and related proteins	セルラーゼM および 関連タ ンパク質
1092	1035541	1036101	1053837	1053277	193	f-1	1035547	1036087	185	-	R	Predicted Zn-dependent proteases	推定Zn依存性 プロテアーゼ
1093	1036098	1036649	1053280	1052729	917	f-3	1036104	1036623	254	CyaB	F	Adenylate cyclase	アデニル酸シク ラーゼ
1094	1036636	1037469	1052742	1051909	194	f-1	1037026	1037341	48	NrfG	R	TPR-repeat-cont aining proteins	TPR-リピート含 有 タンパク質
1095	1037390	1038229	1051988	1051149	2001	r-3	1037390	1038167	275	CbiO	P	ABC-type cobalt transport system	ABC型コバルト 輸送系
1096	1038226	1039704	1051152	1049674	1288	r-1	1038226	1039687	621	TrkG	P	Trk-type K+ transport systems	Trk型K+ 輸送 系
1097	1039796	1040683	1049582	1048695	552	f-2	1039808	1040681	417	Map	J	Methionine aminopeptidase	メチオニン アミ ノプテプターゼ
1098	1041012	1041071	1048366	1048307	918	f-3							
1099	1041624	1041935	1047754	1047443	919	f-3	1041705	1041822	31	SurA	O	Parvulin-like peptidyl-prolyl isomerase	パルブリン様ペ プチジル-プロ リル イソメラー

1111	1052192	1052701	1037186	1036677	556	f-2	1052495	1052684	32	PtsA	G	Phosphoenolpyruvate-protein kinase (PTS system EI component in bacteria)	ホスホエノール ピルビン酸-タ ンパク質 キナ ーゼ (細菌にお けるPTS 系EI 成分)
1112	1052753	1053022	1036625	1036356	557	f-2	1052792	1053005	29	Tar	N	Methyl-accepting chemotaxis protein	メチル受容化学 走性 タンパク 質
1113	1053032	1053793	1036346	1035585	558	f-2	1053032	1053791	411	NrdG	O	Organic radical activating enzymes	有機ラジカル活 性化酵素
1114	1053859	1055274	1035519	1034104	196	f-1	1053952	1055269	727	TIP49	L	DNA helicase TIP49	DNA ヘリカー ゼ TIP49
1115	1055358	1055663	1034020	1033715	920	f-3	1055370	1055445	28	AlsT	E	Na ⁺ /alanine symporter	Na ⁺ /アラニン シンポーター
1116	1056285	1056395	1033093	1032983	921	f-3							
1117	1056392	1057381	1032986	1031997	1998	r-3	1056605	1056746	33	Rpe	G	Pentose-5-phosphate-3-epimerase	ペントース-5-リ ン酸-3-エピメラ ーゼ
1118	1057362	1057835	1032016	1031543	1673	r-2	1057494	1057680	31	Ffh	N	Signal recognition particle GTPase	シグナル 認識 粒子 GTPアー ゼ

1110	1057832	1058302	1031546	1031076	1997	r-3	1058003	1058102	28	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1120	1058495	1059043	1030883	1030335	559	f-2	1058543	1059041	260	-	R	Phospholipid-binding protein	リン脂質結合タンパク質
1121	1059047	1059307	1030331	1030071	1996	r-3	1059104	1059284	30	RfaG	M	Predicted glycosyltransferases	推定グリコシルトランスフェラーゼ
1122	1059399	1059863	1029979	1029515	1672	r-2	1059465	1059795	40	NrfG	R	TPR-repeat-containing proteins	TPR-リピート含有タンパク質
1123	1059921	1060517	1029457	1028861	922	f-3	1059933	1060434	108	GrxC	O	Glutaredoxin and related proteins	グルタレドキシンおよび関連タンパク質
1124	1060582	1061310	1028796	1028068	197	f-1	1060582	1061296	247	CcdA	O	Cytochrome c biogenesis protein	シトクロムc 生物発生タンパク質
1125	1061307	1061768	1028071	1027610	1671	r-2	1061322	1061766	237	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター
1126	1061878	1063221	1027500	1026157	198	f-1	1061878	1063186	614	ArgD	E	PLP-dependent aminotransferases	PLP依存性アミノトランスフェラーゼ
1127	1063298	1064599	1026080	1024779	560	f-2	1063325	1064597	535	UraA	F	Xanthine/uracil permeases	キサンチン/ウラシルパーミアーゼ

													ターゼ
1133	1068394	1069287	1020984	1020091	1281	r-1	1068406	1069240	367	HyfC	C	Formate hydrogenlyase subunit 4	蟻酸塩 水素リ アーゼ サブユ ニット 4
1134	1069288	1071138	1020090	1018240	1280	r-1	1069288	1071115	678	HyfB	C P	Formate hydrogenlyase subunit 3/Multisubunit Na+/H+ antiporter	蟻酸塩 水素リ アーゼ サブユ ニット 3/多重 サブユニット Na+/H+ アンチ ポーター
1135	1070858	1070965	1018520	1018413	561	f-2							
1136	1071135	1072622	1018243	1016756	1668	r-2	1071186	1072614	713	HyfB	C P	Formate hydrogenlyase subunit 3/Multisubunit Na+/H+ antiporter	蟻酸塩 水素リ アーゼ サブユ ニット 3/多重 サブユニット Na+/H+ アンチ ポーター
1137	1072619	1072963	1016759	1016415	1995	r-3	1072619	1072961	194	MnhC	P	Multisubunit Na+/H+ antiporter	多重サブユニッ ト Na+/H+ アン チポーター

1138	1072960	1073688	1016418	1015690	1279	r-1	1072963	1073686	333	MnhB	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーター
1139	1073670	1073954	1015708	1015424	1667	r-2	1073745	1073919	68	-	P	Predicted subunit of the Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーターの推 定サブユニット
1140	1073951	1074343	1015427	1015035	1994	r-3	1073951	1074290	168	MnhG	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーター
1141	1074340	1074594	1015038	1014784	1278	r-1	1074340	1074592	133	MnhF	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーター
1142	1074591	1075124	1014787	1014254	1666	r-2	1074591	1075119	258	MnhE	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーター
1143	1075360	1075860	1014018	1013518	1277	r-1	1075360	1075858	305	-	E	Predicted regulator of amino acid metabolism (contains the ACT domain)	アミノ酸代謝の 推定レギュレー ター(ACT ドメイ ンを含む)

1144	1076013	1077278	1013365	1012100	923	f-3	1076019	1077276	687	-	R	Predicted Fe-S oxidoreductase	推定Fe-S オキシドレダクターゼ
1145	1077432	1077986	1011946	1011392	924	f-3	1077708	1077936	32	RibF	H	FAD synthase	FAD シンターゼ
1146	1078071	1079189	1011307	1010189	1665	r-2	1078071	1079187	569	WecB	M	UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase	UDP-N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ
1147	1079201	1080472	1010177	1008906	1993	r-3	1079219	1080467	577	WecC	M	UDP-N-acetyl-D-mannosaminurate dehydrogenase	UDP-N-アセチル-D-マンノサミノロン酸 デヒドロゲナーゼ
1148	1080723	1081862	1008655	1007516	925	f-3	1080759	1081797	524	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1149	1082285	1084639	1007093	1004739	562	f-2	1082735	1084637	891	ArgS	J	Arginyl-tRNA synthetase	アルギニル-tRNA シンターゼ
1150	1082363	1082779	1007015	1006599	1992	r-3	1082441	1082765	123	LplA	H	Lipoate-protein ligase A	リポ酸-タンパク質 リガーゼ A
1151	1084640	1085716	1004738	1003662	1991	r-3	1084640	1085696	377	-	R	Predicted ATPase of the AAA superfamily	AAA スーパーファミリーの推定ATPアーゼ

1152	1085820	1086698	1003558	1002680	926	f-3	1085820	1086684	375	DapA	E M	Dihydrodipicolinate synthase/N-acetylneuraminylase COG0329 DapA	ジヒドロピコリン酸シンターゼ/N-アセチルノイラミン酸リアーゼ COG0329 DapA
1153	1086762	1086986	1002616	1002392	927	f-3	1086765	1086870	25	PhrB	L	Deoxyribodipyrimidine photolyase	デオキシリボジピリミジンフォトリアーゼ
1154	1087256	1088512	1002122	1000866	1990	r-3	1087265	1088507	746	eRF1	J	Peptide chain release factor eRF1	ペプチド鎖遊離因子eRF1
1155	1088568	1088813	1000810	1000565	1664	r-2							
1156	1088815	1089384	1000563	999994	1276	r-1	1089229	1089355	32	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1157	1089160	1089210	1000218	1000168	199	f-1							
1158	1089484	1089639	999894	999739	1275	r-1	1089532	1089634	26	Fba	G	Fructose/tagatose biphosphate aldolase (fructose 1,6-bisphosphate aldolase)	フルクトース/タガトースビスリン酸アルドラーゼ(フルクトース1,6-ビスホスフェートアルドラー

1159	1089909	1090604	999469	998774	1663	r-2	1090068	1090266	37	BaeS	T	Sensory transduction histidine kinases	感覚器 伝達ヒスチジン キナーゼ
1160	1091118	1091525	998260	997853	1662	r-2	1091292	1091415	33	GloB	R	Zn-dependent hydrolases	Zn依存性ヒドロラーゼ
1161	1091646	1092197	997732	997181	928	f-3	1091877	1092138	37	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1162	1092206	1093522	997172	995856	1989	r-3	1092212	1093496	443	-	M	Predicted membrane-associated Zn-dependent proteases 1	推定膜会合 Zn 依存性プロテアーゼ 1
1163	1093556	1093957	995822	995421	1988	r-3	1093556	1093952	189	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1164	1093967	1095127	995411	994251	1987	r-3	1093967	1095125	593	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1165	1096375	1096839	993003	992539	200	f-1	1096384	1096816	242	RpsO	J	Ribosomal protein S15P/S13E	リボソームタンパク質 S15P/S13E
1166	1096870	1098303	992508	991075	201	f-1	1096870	1098295	681	RecJ	L	Single-stranded DNA-specific	一本鎖DNA-特異的エキソヌクレアーゼ

1167	1098281	1098538	991097	990840	563	f-2	1098317	1098458	29	-	C	exonuclease	レアーゼ
												Phycocyanin alpha-subunit phycocyanobilin lyase and related proteins	フィコシアニン α -サブユニット フィコシアノビリ ンリアーゼ お よび 関連タン パク質
1168	1098554	1099156	990824	990222	564	f-2	1098614	1099148	310	RPS1 A	J	Ribosomal protein S3AE	リボソーム タン パク質 S3AE
1169	1099220	1099486	990158	989892	565	f-2	1099274	1099469	32	HtpG	O	Molecular chaperone	分子シャペロン
1170	1099468	1099908	989910	989470	202	f-1	1099483	1099906	165	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合 タンパク質
1171	1099954	1100991	989424	988387	203	f-1	1099954	1100962	527	-	S	Uncharacterized protein sharing a conserved domain with thiamine biosynthesis protein Thil	チアミン生成成 タンパク質 Thil との保存ドメイ ンを共有する未 同定タンパク質
1172	1101073	1101510	988305	987868	1274	r-1	1101076	1101448	136	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質

1173	1101868	1102326	987510	987052	1273	r-1	1101886	1102324	133	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター
1174	1102786	1103181	986592	986197	1272	r-1	1102795	1103179	136	ArsR	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
1175	1103673	1104461	985705	984917	1661	r-2	1104120	1104330	31	-	P	Putative silver efflux pump	推定 銀 エフラックスポンプ
1176	1104585	1106492	984793	982886	929	f-3	1104651	1106463	742	LonB	O	Predicted ATP-dependent protease (Lon protease)	推定ATP依存性プロテアーゼ (Lonプロテアーゼ)
1177	1106686	1107264	982692	982114	1271	r-1	1106686	1107262	272	-	K	Predicted transcriptional regulator with C-terminal CBS domains	C末端CBS ドメインを有する推定転写レギュレーター
1178	1107524	1108015	981854	981363	1986	r-3	1107524	1108007	160	RhaT	G	Permeases of the drug/metabolite transporter (DMT) superfamily	薬剤のパームーゼ/代謝産物トランスポーター (DMT) スーパーファミリー
												COG0697 RhaT	COG0697 RhaT

1179	1108559	1110253	980819	979125	1985	r-3	1108979	1109507	38	-	S	Uncharacterized archaeal coiled-coil domain	未同定古細菌 コイルドコイル ドメイン
1180	1110347	1111819	979031	977559	566	f-2	1110839	1111814	442	-	R	Exopolyphosphat ase-related proteins	エキソポリホス ファターゼ-関 連タンパク質
1181	1111862	1112080	977516	977298	1984	r-3	1111871	1112075	97	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1182	1112624	1113001	976754	976377	1983	r-3	1112627	1112996	204	-	K	Transcriptional regulator of a riboflavin/FAD biosynthetic operon	リボフラビンの 転写レギュレー ター /FAD 生 合成オペロン
1183	1113459	1114217	975919	975161	930	f-3	1113468	1114212	405	SmtA	Q	SAM-dependent methyltransferas es COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼCOG0500 SmtA
1184	1114407	1117082	974971	972296	931	f-3	1114416	1117071	1584	ValS	J	Valyl-tRNA synthetase	バリル-tRNA シンセターゼ
1185	1117577	1118029	971801	971349	567	f-2	1117577	1118027	289	RPS19 A	J	Ribosomal protein S19E (S16A)	リボソーム タン パク質 S19E (S16A)

1186	1118086	1119738	971292	969640	1270	r-1	1119022	1119301	33	-	R	Predicted metal-dependent RNase	推定金属依存性RNAアーゼ
1187	1119840	1120178	969538	969200	932	f-3	1119840	1120176	182	-	R	DNA-binding protein	DNA結合タンパク質
1188	1120172	1120504	969206	968874	568	f-2	1120172	1120442	30	Lig	L	NAD-dependent DNA ligase (contains BRCT domain type II)	NAD依存性DNA リガーゼ (BRCT ドメイン型 IIを含む)
1189	1120505	1121407	968873	967971	569	f-2	1120514	1121402	506	SUA7	K	Transcription initiation factor IIB	転写開始因子 IIB
1190	1121408	1122520	967970	966858	1982	r-3	1121498	1122512	451	Exo	L	5'-3' exonuclease (including N-terminal domain of PolI)	5'-3' エキソヌクレアーゼ (PolIのN末端ドメインを含む)
1191	1122517	1123746	966861	965632	1269	r-1	1122544	1123741	591	MoeA	H	Molybdopterin biosynthesis enzyme	モリブドプテリン合成酵素
1192	1123810	1124472	965568	964906	204	f-1	1123828	1124440	299	-	J	Predicted subunit of tRNA(5-methylaminomethyl-2-thi	tRNA(5-メチルアミノメチル-2-チオウリジル)メチルトラ

1207	1142537	1142836	946841	946542	573	f-2	1142540	1142834	165	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1208	1142873	1144054	946505	945324	574	f-2	1142891	1144034	531	NMD3	J	NMD protein affecting ribosome stability and mRNA decay	リボソーム安定化および mRNA 分解に影響する NMD タンパク質
1209	1144054	1145121	945324	944257	206	f-1	1144054	1145044	228	-	C	Predicted butyrate kinase	推定酪酸キナーゼ
1210	1145177	1146514	944201	942864	575	f-2	1145180	1146512	743	HcaD	R	Uncharacterized NAD(FAD)-dependent dehydrogenases	未同定 NAD(FAD)依存性デヒドロゲナーゼ
1211	1146553	1148040	942825	941338	207	f-1	1146592	1148029	539	Kch	P	Kef-type K+ transport systems	Kef 型 K ⁺ 輸送系
1212	1148086	1149231	941292	940147	208	f-1	1148095	1149226	549	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1213	1150093	1151094	939285	938284	209	f-1	1150891	1151044	33	AsnB	E	Asparagine synthase (glutamine-hydrolyzing)	アスパラギンシンターゼ (グルタミン加水分解)

1214	1151091	1154534	938287	934844	1659	r-2	1152798	1154532	958	InfB	J	Translation initiation factor 2 (GTPase)	翻訳 開始因子 2 (GTPアーゼ)
1215	1155108	1155464	934270	933914	933	f-3	1155324	1155450	29	NhaB	P	Na ⁺ /H ⁺ antiporter	Na ⁺ /H ⁺ アンチ ポーター
1216	1155466	1155999	933912	933379	1261	r-1	1155487	1155940	256	Ndk	F	Nucleoside diphosphate kinase	ヌクレオシドジ リン酸 キナー ゼ
1217	1157418	1157627	931960	931751	1658	r-2	1157424	1157625	136	RPL24 A	J	Ribosomal protein L24E	リボソーム タン パク質 L24E
1218	1157624	1157836	931754	931542	1979	r-3	1157630	1157792	77	RPS28 A	J	Ribosomal protein S28E/S33	リボソーム タン パク質 S28E/S33
1219	1157916	1158293	931462	931085	1657	r-2	1157922	1158291	226	RPL8A	J	Ribosomal protein HS6-type (S12/L30/L7a)	リボソーム タン パク質 HS6型 (S12/L30/L7a)
1220	1158361	1159554	931017	929824	1260	r-1	1158373	1159537	321	RAD55	T	RecA-superfamily ATPases implicated in signal transduction	RecA-スーパーパ ファミリー ATP アーゼ、シグナ ル伝達に關与
1221	1159686	1160306	929692	929072	1656	r-2	1159695	1160295	277	-	S	Uncharacterized archaeal	未同定古細菌 Zn-フィンガーフ

												Zn-finger family	アミリー
1222	1161299	1161634	928079	927744	1978	r-3	1161314	1161596	128	-	R	Uncharacterized ATPases of the AAA superfamily	AAA スーパーファミリーの未同定ATPアーゼ
1223	1161690	1163606	927688	925772	1655	r-2	1162347	1163139	448	CysH	E H	3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate sulfotransferase (PAPS reductase)/FAD synthetase and related enzymes COG0175 CysH	3'-ホスホアデノシン 5'-ホスホ硫酸塩 スルホトランスフェラーゼ (PAPSレダクターゼ)/FADシンセターゼ および 関連酵素COG0175 CysH
1224	1163703	1164656	925675	924722	934	f-3	1163775	1164561	466	HfIC	O	Membrane protease subunits	膜プロテアーゼサブユニット
1225	1164663	1165082	924715	924296	935	f-3	1164663	1165077	148	-	N O	Membrane protein implicated in regulation of membrane protease activity	膜タンパク質、膜プロテアーゼ活性の調節に関与 COG1585 -

																				COG1585 -		
1226	1165121	1165714	924257	923664	576	f-2	1165130	1165706	202	Tdk	F	Thymidine kinase	チミジン キナーゼ									
1227	1165724	1165948	923654	923430	577	f-2	1165793	1165946	81	RPL39	J	Ribosomal protein L39E	リボソーム タンパク質 L39E									
1228	1165959	1166231	923419	923147	936	f-3	1165959	1166217	136	RPL31 A	J	Ribosomal protein L31E	リボソーム タンパク質 L31E									
1229	1166259	1166948	923119	922430	937	f-3	1166259	1166943	329	TIF6	J	Eukaryotic translation initiation factor 6 (EIF6)	真核生物翻訳開始因子6 (EIF6)									
1230	1167001	1167234	922377	922144	210	f-1	1167001	1167232	91	RPL20 A	J	Ribosomal protein L20A (L18A)	リボソーム タンパク質 L20A (L18A)									
1231	1167503	1168657	921875	920721	1977	r-3	1167503	1168655	468	RfaG	M	Predicted glycosyltransferases	推定グリコシルトランスフェラーゼ									
1232	1168678	1169472	920700	919906	1259	r-1	1168747	1169299	87	UbiA	H	4-hydroxybenzoate polyprenyltransferase	4-ヒドロキシ安息香酸ポリプレニルトランスフェラーゼ									

1233	1169576	1171024	919802	918354	1976	r-3	1169591	1170995	718	GltD	E R	NADPH-depende nt glutamate synthase beta chain and related oxidoreductases COG0493 GltD	NADPH依存性 グルタミン酸シ ンターゼ β 鎖 および 関連オ キシドレダクタ ーゼ COG0493 GltD
1234	1171021	1171905	918357	917473	1258	r-1	1171021	1171894	441	UbiB	H C	2-polyprenylphen ol hydroxylase and related flavodoxin oxidoreductases COG0543 UbiB	2-ポリプレニル フェノール ヒド ロキシラーゼ および 関連フ ラボドキシン オ キシドレダクタ ーゼ COG0543 UbiB
1235	1172047	1172277	917331	917101	211	f-1	1172059	1172224	35	PotE	E	Amino acid transporters	アミノ酸トランス ポーター
1236	1172264	1173025	917114	916353	1975	r-3	1172264	1173023	330	GCD1 4	J	Predicted SAM-dependent methyltransferas e involved in tRNA-Met maturation	推定SAM依存 性メチルトラン スフェラーゼ、 tRNA-Met 成 熟に関与

1237	1173022	1173636	916356	915742	1257	r-1	1173112	1173265	32	NemA	C	NADH:flavin oxidoreductases	NADH:flavin キシドレダクタ ーゼ
1238	1173687	1174022	915691	915356	938	f-3	1173699	1173975	120	SEC65	N	Signal recognition particle 19 kDa protein	シグナル 認識 粒子 19 kDa タ ンパク質
1239	1174023	1174274	915355	915104	1654	r-2	1174041	1174227	47	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレー ター
1240	1174284	1174388	915094	914990	1653	r-2							
1241	1174493	1177870	914885	911508	578	f-2	1174493	1175486	467	-	R	Predicted helicases	推定ヘリカーゼ
1242	1178296	1178862	911082	910516	212	f-1	1178305	1178854	198	CoaE	H	Dephospho-CoA kinase	デホスホ-CoA キナーゼ
1243	1178840	1179322	910538	910056	579	f-2	1178906	1179320	232	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1244	1179335	1180606	910043	908772	1974	r-3	1179335	1180583	409	NatB	C	ABC-type Na+ efflux pump	ABC型Na+ エ フラックスポン プ
1245	1180603	1181361	908775	908017	1256	r-1	1180609	1181317	376	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系
1246	1181719	1181916	907659	907462	1255	r-1	1181776	1181914	82	-	K	Predicted transcriptional	推定転写レギュ レーター

1254	1188962	1189906	900416	899472	1970	r-3	1188983	1189385	35	GcvP	E	Glycine cleavage system protein P (pyridoxal-binding)	グリシン切断系 タンパク質 P (ピリドキサル 結合)
1255	1189940	1190062	899438	899316	1969	r-3	1190009	1190057	26	MalF	G	ABC-type sugar transport systems	ABC型糖 輸送 系
1256	1191309	1191941	898069	897437	1651	r-2	1191474	1191585	29	MalK	G	ABC-type sugar/spermidine /putrescine/iron/ thiamine transport systems	ABC型糖/スペ ルミジン/プトレ シン/鉄/チアミ ン 輸送系
1257	1195773	1195841	893605	893537	939	f-3							
1258	1196421	1196939	892957	892439	1650	r-2	1196724	1196871	33	Gmk	F	Guanylate kinase	Guanylate キナ ーゼ
1259	1197121	1197330	892257	892048	1252	r-1	1197211	1197322	30	FecB	P	ABC-type Fe3+-siderophore s transport systems	ABC型Fe3+-シ デロフォア 輸 送系
1260	1197327	1197827	892051	891551	1649	r-2	1197588	1197801	31	UvrA	L	Excinuclease ATPase subunit	エキヌクレア ーゼ ATPア ーゼサブユニット

1261	1197859	1198116	891519	891262	1251	r-1	1197958	1198078	26	-	T	SH3 domain protein	SH3 ドメイン タンパク質
1262	1198129	1198395	891249	890983	1250	r-1	1198141	1198300	30	AlkA	L	3-Methyladenine DNA glycosylase	3-メチルアデニ ン DNA グリコ シラーゼ
1263	1198775	1198969	890603	890409	581	f-2	1198808	1198907	33	AbrB	K	Regulators of stationary/sporul ation gene expression	定常期/胞子形 成 遺伝子発現 のレギュレータ ー
1264	1199210	1199536	890168	889842	1968	r-3	1199303	1199522	31	Smc	D	Chromosome segregation ATPases	染色体分離 ATPアーゼ
1265	1200465	1200542	888913	888836	940	f-3							
1266	1202741	1204258	886637	885120	1967	r-3	1202750	1204256	910	GcvP	E	Glycine cleavage system protein P (pyridoxal-binding)	グリシン切断系 タンパク質 P (ピリドキサール 結合)
1267	1204260	1205624	885118	883754	1648	r-2	1204269	1205598	727	GcvP	E	Glycine cleavage system protein P (pyridoxal-binding)	グリシン切断系 タンパク質 P (ピリドキサール 結合)

1268	1205780	1207075	883598	882303	1966	r-3	1206086	1206206	32	FilI	N	Flagellar biosynthesis/type III secretory pathway ATPase	鞭毛生合成/型 III 分泌経路 ATPアーゼ
1269	1207362	1207793	882016	881585	941	f-3	1207452	1207662	32	PorG	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox in oxidoreductases	ピルビン酸:フェレドキシンオキシドレダクターゼおよび関連2-オキソ酸:フェレドキシンオキシドレダクターゼ
1270	1207790	1208482	881588	880896	582	f-2	1207790	1208444	312	-	R	Predicted hydrolases of the HAD superfamily	HAD スーパーファミリーの推定ヒドロラーゼ
1271	1209464	1210141	879914	879237	583	f-2	1209512	1210130	239	-	R	Predicted ICC-like phosphoesterases	推定ICC様ホスホエステラーゼ
1272	1210174	1210893	879204	878485	213	f-1	1210189	1210885	275	-	S	Uncharacterized membrane protein	未同定膜タンパク質
1273	1210890	1211111	878488	878267	942	f-3	1210890	1211058	33	Smc	D	Chromosome segregation	染色体分離 ATPアーゼ

1281	1219074	1219190	870304	870188	944	f-3							
1282	1219197	1220690	870181	868688	1646	r-2	1219197	1220676	790	GlpK	C	Glycerol kinase	グリセロール キナーゼ
1283	1220740	1221513	868638	867865	1247	r-1	1220767	1221511	387	UgpQ	C	Glycerophosphor yl diester phosphodiesteras e	グリセロホスホ リルジエステ ルホスホジエス テラーゼ
1284	1221503	1222201	867875	867177	1964	r-3	1221509	1222124	92	UgpQ	C	Glycerophosphor yl diester phosphodiesteras e	グリセロホスホ リルジエステ ルホスホジエス テラーゼ
1285	1222282	1223655	867096	865723	216	f-1	1222297	1223653	582				
1286	1223758	1225113	865620	864265	217	f-1	1223821	1225096	605				
1287	1225113	1225991	864265	863387	945	f-3	1225179	1225965	379	-	R	Hydrolases of the alpha/beta superfamily	α/β スーパー ファミリーのヒ ドロラーゼ
1288	1226169	1226861	863209	862517	946	f-3	1226217	1226835	187	-	R	Predicted deacetylase	推定デアセチラ ーゼ
1289	1227076	1227702	862302	861676	1246	r-1	1227088	1227691	290	Tmk	F	Thymidylate kinase	チミジル酸 キ ナーゼ
1290	1227756	1228466	861622	860912	1645	r-2	1227756	1228449	365	CpsG	G	Phosphomannom utase	ホスホマンノム ターゼ

1291	1228622	1230493	860756	858885	584	f-2	1228631	1230482	1088	PckA	C	Phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP)	ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (GTP)
1292	1230580	1233081	858798	856297	218	f-1	1230592	1233058	1177	GlgP	G	Glucan phosphorylase	グルカン ホスホリラーゼ
1293	1233236	1234546	856142	854832	585	f-2	1233818	1234340	44	-	R	Na ⁺ -dependent transporters of the SNF family	SNF ファミリーのNa ⁺ 依存性トランスポーター
1294	1234563	1236284	854815	853094	1644	r-2	1234569	1236282	931	GlnS	J	Glutamyl- and glutaminyl-tRNA synthetases	グルタミレ-および グルタミニル-tRNA シンセターゼ
1295	1236584	1237978	852794	851400	1963	r-3	1236584	1237964	630	DnaG	L	DNA primase (bacterial type)	DNA プライマーゼ (細菌型)
1296	1237975	1238376	851403	851002	1245	r-1	1237975	1238371	177	-	L	Small primase-like proteins (Toprim domain)	スモールプライマーゼ様タンパク質 (Toprim ドメイン)
1297	1238433	1239707	850945	849671	1643	r-2	1238439	1239702	677	-	C	Fe-S oxidoreductases family 2	Fe-S オキシドレダクターゼファミリー 2
1298	1239791	1239994	849587	849384	1962	r-3	1239791	1239992	92	HHT1	L	Histones H3 and	ヒストンH3 およ

1309	1246241	1247059	843137	842319	1960	r-3	1246241	1247057	446	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1310	1247369	1248709	842009	840669	1959	r-3	1247567	1248584	105	FucI	G	L-fucose isomerase and related proteins	L-フコース イソ メラーゼ およ び 関連タンパ ク質
1311	1248621	1249226	840757	840152	948	f-3	1248630	1249179	314	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1312	1250499	1251188	838879	838190	1638	r-2	1250499	1251186	333	RpiA	G	Ribose 5-phosphate isomerase	リボース 5-リン 酸 イソメラーゼ
1313	1251193	1251561	838185	837817	1240	r-1	1251223	1251379	29	SUL1	P	Sulfate permease and related transporters (MFS superfamily)	硫酸塩 パーミ ターゼ および 関連トランスポ ーター(MFS ス ーパーファミリー ー)
1314	1251632	1253578	837746	835800	1958	r-3	1251632	1253576	1146	-	R	Predicted metal-dependent RNase	推定金属依存 性RNターゼ
1315	1253588	1253788	835790	835590	1957	r-3	1253588	1253750	74	HsIV	O	Proteasome protease subunit	プロテアソーム プロテアターゼ サブユニット

1316	1254304	1255470	835074	833908	219	f-1	1254304	1254742	37	AdkA	F	Archaeal adenylate kinase	古細菌アデニ ル酸キナーゼ
1317	1255582	1256436	833796	832942	1239	r-1	1255594	1256431	481	GdhA	E	Glutamate dehydrogenase/le ucine dehydrogenase	グルタミン酸デ ヒドロゲナーゼ /ロイシン デヒ ドロゲナーゼ
1318	1256379	1256846	832999	832532	1637	r-2	1256379	1256808	256	GdhA	E	Glutamate dehydrogenase/le ucine dehydrogenase	グルタミン酸デ ヒドロゲナーゼ /ロイシン デヒ ドロゲナーゼ
1319	1257402	1258961	831976	830417	949	f-3	1257411	1258956	828	-	R	Na ⁺ -dependent transporters of the SNF family	Na ⁺ 依存性トラ ンスポーターof the SNF ファミ リー
1320	1258972	1259079	830406	830299	220	f-1	1258972	1259038	26	SurA	O	Parvulin-like peptidyl-prolyl isomerase	パルブリン様ペ プチジル-プロ リル イソメラー ゼ
1321	1259124	1259858	830254	829520	950	f-3	1259490	1259712	33	SgaT	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR
1322	1259855	1260172	829523	829206	1956	r-3	1259855	1260143	100	GlnK	E	Nitrogen regulatory protein PII	窒素 レギュレ ータータンパ ク質 PII

1323	1260229	1262256	829149	827122	1238	r-1	1260229	1261816	720	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1324	1262388	1262651	826990	826727	951	f-3							
1325	1262709	1264661	826669	824717	952	f-3	1262709	1264623	880	-	K	Predicted RNA-binding protein homologous to eukaryotic snRNP	真核生物 snRNPに相同 な推定RNA結 合タンパク質
1326	1264658	1265074	824720	824304	1955	r-3	1264658	1265072	231	NikR	K	Predicted transcriptional regulators containing the CopG/Arc/MetJ DNA-binding domain and a metal-binding domain	CopG/Arc/Met J DNA結合ドメ インおよび金 属結合ドメイン を含む推定転 写レギュレータ —
1327	1265145	1265591	824233	823787	953	f-3	1265307	1265409	29	HsdR	L	Restriction enzymes type I helicase subunits and related helicases	制限酵素型ヘ リカーゼサブ ユニットおよび 関連ヘリカーゼ

1328	1265593	1266390	823785	822988	221	f-1	1266082	1266259	31	UgpB	G	Sugar-binding periplasmic proteins/domains	糖結合 ペリプ ラスムタンパク 質/ドメイン
1329	1266750	1267955	822628	821423	954	f-3	1266750	1267941	638	-	R	Predicted alternative tryptophan synthase beta-subunit (paralog of TrpB)	推定代替トリプ トファンシンター ゼ β -サブユ ニット (TrpBの パラログ)
1330	1268130	1269137	821248	820241	1636	r-2	1268130	1269132	523	Asd	E	Aspartate-semial dehyde dehydrogenase	アスパラギン酸 -セミアルデヒド デヒドロゲナー ゼ
1331	1269155	1270042	820223	819336	1954	r-3	1269167	1270037	312	ThrB	E	Homoserine kinase	ホモセリン キ ナーゼ
1332	1270062	1271162	819316	818216	1635	r-2	1270083	1271085	242	LysC	E	Aspartokinases	アスパルトキナ ーゼ
1333	1271162	1272181	818216	817197	1953	r-3	1271171	1272170	567	MetE	E	Methionine synthase II (cobalamin-indep endent)	メチオニン シン ターゼ II (コバ ラミン非依存性)
1334	1272174	1273103	817204	816275	1634	r-2	1272174	1273068	462	MetE	E	Methionine synthase II	メチオニン シン ターゼ II (コバ

1335	1273100	1274158	816278	815220	1952	r-3	1273109	1274144	296	MetF	E	5	(cobalamin-independent)	ラミン非依存性)
1336	1274151	1275281	815227	814097	1633	r-2	1274154	1275270	484	MetC	E		Cystathionine beta-lyases/cystathionine gamma-synthases	シスタチオニン β-リアーゼ/シ スタチオニン γ-シンターゼ
1337	1275461	1276135	813917	813243	1951	r-3	1275509	1276133	239	-	J		Ribonuclease P subunit Rpp30	リボヌクレアー ゼ P サブユニ ット Rpp30
1338	1276120	1276689	813258	812689	1237	r-1	1276240	1276684	210	-	S		Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1339	1276727	1278301	812651	811077	1950	r-3	1276892	1278245	140	MdIB	Q		ABC-type multidrug/protein/lipid transport system	ABC型多重薬 剤/タンパク質/ 脂質 輸送系
1340	1278636	1279535	810742	809843	1632	r-2	1279008	1279143	32	LivG	E		ABC-type branched-chain amino acid transport systems	ABC型分岐鎖 アミノ酸輸送系
1341	1279958	1280587	809420	808791	1949	r-3	1279958	1280585	320	RPL15	J		Ribosomal protein	リボソーム タン

1351	1295748	1297115	793630	792263	956	f-3	1295760	1297065	379	-	R	Predicted ATPase of the AAA superfamily	AAA スーパー ファミリーの推 定ATPアーゼ
1352	1297116	1298444	792262	790934	1628	r-2	1297161	1298433	640	ArgE	E	Acetylornithine deacetylase/Suc cinyl-diaminopime late desuccinylase and related deacylases	アセチルオルニ チンデアセチラ ーゼ/スグシニ ル-ジアミノピメ リン酸デスグシ ニラーゼ およ び 関連デアシ ラーゼ
1353	1298625	1298846	790753	790532	957	f-3	1298646	1298805	27	PanC	H	Panthothenate synthetase	パントテン酸 シ ンセターゼ
1354	1299189	1300220	790189	789158	1627	r-2	1299189	1300218	487	IspA	H	Geranylgeranyl pyrophosphate synthase	ゲラニルゲラニ ルピロリン酸 シンターゼ
1355	1300290	1301624	789088	787754	1626	r-2	1300290	1301619	738	-	R	Predicted hydrolase of the metallo-beta-lact amase superfamily	メタロ-β-ラク タマーゼ スー パーファミリー の推定ヒドロラ ーゼ

1356	1301759	1302934	787619	786444	1948	r-3	1301825	1302926	586	LldD	C	L-lactate dehydrogenase (FMN-dependent) and related alpha-hydroxy acid dehydrogenases	L-乳酸デヒドロゲナーゼ (FMN 依存性) および 関連 α -ヒドロキシ 酸デヒドロゲナーゼ
1357	1302931	1303617	786447	785761	1235	r-1	1302940	1303612	268	RacX	M	Aspartate racemase	アスパラギン酸 ラセマーゼ
1358	1303690	1304454	785688	784924	1234	r-1	1303699	1304449	388	CinA	R	Predicted nucleotide-utilizing enzyme related to molybdopterin-biosynthesis enzyme MoeA	推定ヌクレオチド利用 酵素、モリブドプテリン-生合成酵素 MoeAに関連
1359	1304451	1305239	784927	784139	1625	r-2	1304451	1305222	243	-	R	Predicted archaeal kinases	推定古細菌キナーゼ
1360	1305236	1306249	784142	783129	1947	r-3	1305251	1306247	484	ERG12	I	Mevalonate kinase	メバロン酸キナーゼ
1361	1306246	1306722	783132	782656	1233	r-1	1306312	1306711	150	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

1362	1306665	1307039	782713	782339	1624	r-2	1306704	1307028	107	-	R	Predicted nucleotidyltransferases	推定ヌクレオチ ジルトランスフェ ラーゼ
1363	1307076	1307963	782302	781415	1623	r-2	1307088	1307961	485	-	R	Predicted dioxxygenase	推定ジオキシゲ ナーゼ
1364	1307989	1309053	781389	780325	1232	r-1	1307989	1309027	408	ThrC	E	Threonine synthase	スレオニンシ ンターゼ
1365	1309106	1309948	780272	779430	587	f-2	1309133	1309940	284	Udp	F	Uridine phosphorylase	ウリジン ホス ホリラーゼ
1366	1309950	1311020	779428	778358	958	f-3	1310643	1311006	36	-	S	Uncharacterized archaeal coiled-coil domain	未同定古細菌 コイルドコイル ドメイン
1367	1311965	1313317	777413	776061	1946	r-3	1311974	1313285	489	HcaD	R	Uncharacterized NAD(FAD)-depen dent dehydrogenases	未同定 NAD(FAD)依存 性デヒドロゲナ ーゼ
1368	1313412	1314224	775966	775154	1622	r-2	1313421	1314216	415	Pnp	F	Purine nucleoside phosphorylase	プリンヌクレオ シド ホスホリラ ーゼ
1369	1315661	1315879	773717	773499	1945	r-3	1315679	1315763	29	PrmA	J	Ribosomal protein L11 methylase	リボソーム タン パク質 L11 メ チラーゼ

1377	1321326	1322096	768052	767282	960	f-3	1321335	1322010	346	ApaH	T	Diadenosine tetraphosphatase and related serine/threonine protein phosphatases	ジアデニン tetraホスファタ ーゼ および 関連セリン/ス レオニン タン パク質 ホスフ アターゼ
1378	1322102	1322401	767276	766977	1944	r-3	1322102	1322399	150	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1379	1322840	1323004	766538	766374	1943	r-3	1322849	1323002	105	RPL40 A	J	Ribosomal protein L40E	リボソーム タン パク質 L40E
1380	1323183	1323788	766195	765590	1621	r-2	1323186	1323783	368	RpsB	J	Ribosomal protein S2	リボソーム タン パク質 S2
1381	1323802	1324827	765576	764551	1229	r-1	1323802	1324822	474	Eno	G	Enolase	エノラーゼ
1382	1325139	1325336	764239	764042	1620	r-2	1325139	1325334	122	RPB10	K	DNA-directed RNA polymerase	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼ
1383	1325369	1325800	764009	763578	1942	r-3	1325393	1325798	217	RpsI	J	Ribosomal protein S9	リボソーム タン パク質 S9
1384	1325787	1326215	763591	763163	1619	r-2	1325787	1326213	254	RplM	J	Ribosomal protein L13	リボソーム タン パク質 L13
1385	1326222	1326593	763156	762785	1618	r-2	1326231	1326591	187	RPL18 A	J	Ribosomal protein L18E	リボソーム タン パク質 L18E

1386	1326738	1327526	762640	761852	1617	r-2	1326747	1327521	411	RpoA	K	DNA-directed RNA polymerase alpha subunit/40 kD subunit	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼαサブユニット ト/40 kD サブ ユニット
1387	1327548	1327970	761830	761408	1616	r-2	1327548	1327944	188	RpsK	J	Ribosomal protein S11	リボソームタン パク質 S11
1388	1327967	1328509	761411	760869	1941	r-3	1327967	1328507	239	RpsD	J	Ribosomal protein S4 and related proteins	リボソームタン パク質 S4 お よび 関連タン パク質
1389	1328520	1329077	760858	760301	1615	r-2	1328637	1329075	235	RpsM	J	Ribosomal protein S13	リボソームタン パク質 S13
1390	1329084	1329671	760294	759707	1614	r-2	1329084	1329669	327	RsmC	J	16S RNA G1207 methylase RsmC	16S RNA G1207 メチラー ゼ RsmC
1391	1330058	1330213	759320	759165	589	f-2							
1392	1330540	1331565	758838	757813	1228	r-1	1330549	1331551	632	TruB	J	Pseudouridine synthase	プソイドウリジン シンターゼ
1393	1331777	1332007	757601	757371	1940	r-3	1331810	1331987	40	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

1394	1332043	1332753	757335	756625	1227	r-1	1332094	1332751	201	FabG	Q	Dehydrogenases with different specificities (related to short-chain alcohol dehydrogenases) COG1028 FabG	異なる特異性を有するデヒドロゲナーゼ(関連 to 短鎖アルコールデヒドロゲナーゼ) COG1028 FabG
1395	1332861	1333112	756517	756266	1613	r-2	1332861	1333107	142	RPL14 A	J	Ribosomal protein L14E	リボソームタンパク質 L14E
1396	1333113	1333694	756265	755684	1612	r-2	1333113	1333644	327	Cmk	F	Cytidylate kinase 2	シチジル酸キナーゼ 2
1397	1333706	1333999	755672	755379	1939	r-3	1333727	1333991	175	RPL34 A	J	Ribosomal protein L34E	リボソームタンパク質 L34E
1398	1334020	1334550	755358	754828	1226	r-1	1334026	1334542	194	-	S	Uncharacterized membrane protein	未同定膜タンパク質
1399	1334537	1335136	754841	754242	1938	r-3	1334546	1335134	290	AdkA	F	Archaeal adenylate kinase	古細菌アデニル酸キナーゼ
1400	1335210	1336667	754168	752711	1611	r-2	1335219	1336659	665	SecY	N	Preprotein translocase subunit SecY	Preタンパク質トランスロカーゼサブユニット SecY
1401	1336699	1337145	752679	752233	1225	r-1	1336699	1337143	155	RplO	J	Ribosomal protein	リボソームタン

1402	1337157	1337624	752221	751754	1610	r-2	1337157	1337622	269	RpmD	J	L15	リボソーム タン パク質 L30/L7E
1403	1337636	1338343	751742	751035	1937	r-3	1337648	1338341	426	RpsE	J	Ribosomal protein S5	リボソーム タン パク質 S5
1404	1338340	1338954	751038	750424	1224	r-1	1338340	1338946	302	RplR	J	Ribosomal protein L18	リボソーム タン パク質 L18
1405	1338956	1339411	750422	749967	1936	r-3	1338959	1339409	213	RPL19 A	J	Ribosomal protein L19E	リボソーム タン パク質 L19E
1406	1339413	1339793	749965	749585	1609	r-2	1339473	1339791	194	RPL32	J	Ribosomal protein L32E	リボソーム タン パク質 L32E
1407	1339810	1340373	749568	749005	1223	r-1	1339810	1340371	302	RplF	J	Ribosomal protein L6	リボソーム タン パク質 L6
1408	1340375	1340767	749003	748611	1935	r-3	1340375	1340765	243	RpsH	J	Ribosomal protein S8	リボソーム タン パク質 S8
1409	1340779	1340949	748599	748429	1222	r-1	1340779	1340947	122	RpsN	J	Ribosomal protein S14	リボソーム タン パク質 S14
1410	1340951	1341502	748427	747876	1934	r-3	1340960	1341491	307	RplE	J	Ribosomal protein L5	リボソーム タン パク質 L5
1411	1341516	1342247	747862	747131	1608	r-2	1341516	1342245	444	RPS4 A	J	Ribosomal protein S4E	リボソーム タン パク質 S4E
1412	1342247	1342612	747131	746766	1933	r-3	1342247	1342574	189	RplX	J	Ribosomal protein	リボソーム タン

1423	1346670	1347437	742708	741941	1603	r-2	1346670	1347435	415	RplD	J	L23	パク質 L23
1424	1347448	1348488	741930	740890	1219	r-1	1347448	1348435	509	RplC	J	Ribosomal protein L4	リボソームタンパク質 L4
1425	1348490	1349344	740888	740034	1928	r-3	1348574	1349333	394	-	S	Ribosomal protein L3	リボソームタンパク質 L3
1426	1349882	1351258	739496	738120	1927	r-3	1349882	1351238	706	-	R	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1427	1351322	1352506	738056	736872	1926	r-3	1351358	1352504	501	-	L	Predicted ATPase of the AAA superfamily	AAA スーパーファミリーの推定ATPアーゼ
1428	1352613	1353269	736765	736109	1602	r-2	1352721	1353255	301	RplP	J	ATP-dependent DNA ligase	ATP依存性DNA リガーゼ
1429	1354574	1355740	734804	733638	590	f-2	1354601	1355738	619	-	E	Ribosomal protein L16/L10E	リボソームタンパク質 L16/L10E
												Serine-pyruvate aminotransferase /archaeal aspartate aminotransferase	セリン-ピルビン酸 アミノトランスフェラーゼ/ 古細菌アスパラギン酸 アミノトランスフェラーゼ

1430	1355821	1356402	733557	732976	1218	r-1	1355821	1356397	256	VirB11	N	Predicted ATPases involved in pili and flagella biosynthesis	推定ATPアー ゼ、線毛 およ び 鞭毛生成成 に関与
1431	1356606	1357514	732772	731864	961	f-3	1356615	1357512	426	AsnS	J	Aspartyl/asparagi nyl-tRNA synthetases	アスパルチル/ アスパラギニル -tRNA シンセ ターゼ
1432	1357517	1358350	731861	731028	1925	r-3	1357520	1358333	394	MesJ	D	Predicted ATPase of the PP-loop superfamily implicated in cell cycle control	PP-ループスー パーファミリー の推定ATPア ーゼ、細胞周 期制御に関連
1433	1358441	1359433	730937	729945	1924	r-3	1358945	1359113	36	LacA	G	Beta-galactosida se	β-ガラクトシダ ーゼ
1434	1361181	1362461	728197	726917	962	f-3	1361181	1362417	612	-	M	Glycosyltransfera ses	グリコシルトラ ンスフェラーゼ
1435	1362449	1362523	726929	726855	591	f-2	1362449	1362521	43	-	M	Glycosyltransfera ses	グリコシルトラ ンスフェラーゼ
1436	1363010	1363930	726368	725448	1923	r-3	1363016	1363925	512	MesJ	D	Predicted ATPase of the PP-loop	PP-ループスー パーファミリー の推定ATPア

												superfamily implicated in cell cycle control	一ゼ、細胞周期制御に関連
1437	1363972	1365465	725406	723913	1217	r-1	1364029	1365457	858	-	R	Uncharacterized FAD-dependent dehydrogenases	未同定FAD依存性デヒドロゲナーゼ
1438	1365589	1366155	723789	723223	228	f-1	1365643	1366150	228	-	R	CBS domains	CBS ドメイン
1439	1366195	1367346	723183	722032	229	f-1	1366204	1367341	495	KefB	P	Kef-type K+ transport systems	Kef型K+ 輸送系
1440	1367357	1368481	722021	720897	592	f-2	1367357	1368416	353	KefB	P	Kef-type K+ transport systems	Kef型K+ 輸送系
1441	1368582	1369193	720796	720185	963	f-3	1368636	1369188	221	MarC	S	Integral membrane proteins of the MarC family	MarC ファミリーの内在性膜タンパク質
1442	1369248	1370567	720130	718811	964	f-3	1369266	1370559	647	HisS	J	Histidyl-tRNA synthetase	ヒスチジル-tRNA シンセターゼ

1443	1370627	1370989	718751	718389	1922	r-3	1370681	1370972	51	Cls	I	Phosphatidylserine/phosphatidylglycerophosphate/cardioli pin synthases and related enzymes	ホスファチジルセリン/ホスファチジルグリセリン酸/カルジオリピンシンターゼ および関連酵素
1444	1371847	1372125	717531	717253	230	f-1	1371853	1372030	34	-	S	Uncharacterized archaeal coiled-coil domain	未同定古細菌コイルドコイルドメイン
1445	1372322	1373752	717056	715626	593	f-2	1372358	1372637	32	PheS	J	Phenylalanyl-tRNA synthetase alpha subunit	フェニルアラニル-tRNA シンターゼ α サブユニット
1446	1373902	1376664	715476	712714	231	f-1	1373911	1376659	1504	AlaS	J	Alanyl-tRNA synthetase	アラニル-tRNA シンターゼ
1447	1376921	1378402	712457	710976	594	f-2	1376936	1378388	653	PutP	E H R	Na ⁺ /proline	Na ⁺ /プロリン
1448	1378470	1379534	710908	709844	1601	r-2	1378470	1379532	568	EutG	C	Alcohol dehydrogenase IV	アルコールデヒドロゲナーゼ IV

1449	1379649	1380014	709729	709364	965	f-3	1379802	1379913	28	HemB	H	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	Δ-アミノレブリン酸デヒドロターゼ
1450	1379981	1380445	709397	708933	1921	r-3	1380098	1380248	33	FlgH	N	Flagellar basal body L-ring protein	鞭毛 基底小体 L-環 タンパク 質
1451	1380532	1381284	708846	708094	1216	r-1	1380532	1381279	332	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1452	1381281	1382687	708097	706691	1600	r-2	1381296	1382565	209	-	R	Predicted ATPase of the AAA superfamily	AAA スーパーファミリーの推定ATPアーゼ
1453	1382767	1384572	706611	704806	232	f-1	1382809	1384570	1039	ELP3	K	ELP3 component of the RNA polymerase II complex	RNA ポリメラーゼII 複合体の ELP3 成分
1454	1384569	1385354	704809	704024	1599	r-2	1385043	1385295	44	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1455	1385351	1385914	704027	703464	1920	r-3	1385360	1385834	101	HdeD	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR
1456	1386061	1387578	703317	701800	1215	r-1	1386079	1387129	150	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
1457	1387922	1388011	701456	701367	595	f-2							

1458	1388004	1389050	701374	700328	1598	r-2	1388016	1388826	96	NosY	R	ABC-type transport system involved in multi-copper enzyme maturation	ABC型輸送系、多重銅酵素成熟に関与
1459	1388485	1388589	700893	700789	233	f-1	1388485	1388584	26	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1460	1389047	1389982	700331	699396	1919	r-3	1389059	1389962	268	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸送系
1461	1390108	1390617	699270	698761	234	f-1	1390108	1390498	229	-	R	Predicted Fe-S-cluster oxidoreductase	推定Fe-S-クラスターオキシドレダクターゼ
1462	1390656	1391165	698722	698213	966	f-3	1390668	1391157	246	NIP7	J	Protein involved in ribosomal biogenesis	リボソーム生合成に関与するタンパク質
1463	1391397	1391669	697981	697709	967	f-3	1391445	1391511	28	GloB	R	Zn-dependent hydrolases	Zn依存性ヒドロラーゼ
1464	1393980	1394540	695398	694838	968	f-3	1393980	1394523	160	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸送系

1465	1396160	1396951	693209	692427	596	f-2	1396205	1396946	461	RAD55	T	RecA-superfamily ATPases implicated in signal transduction	RecA-スーパー ファミリー ATP アーゼ、シグ ナル伝達に関 連
1466	1396965	1397522	692413	691856	969	f-3	1396977	1397328	206	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュ レーター
1467	1397528	1397968	691850	691410	1918	f-3	1397546	1397951	245	SpeD	E	S-adenosylmethi onine decarboxylase	S-アデノシルメ チオニンデカル ボキシラーゼ
1468	1398271	1399176	691107	690202	235	f-1	1398328	1399144	272	SecF	N	Preprotein translocase subunit SecF	Preタンパク質 トランスロカー ゼ サブユニット SecF
1469	1399173	1400693	690205	688685	970	f-3	1399188	1400673	452	SecD	N	Preprotein translocase subunit SecD	Preタンパク質 トランスロカー ゼ サブユニット SecD
1470	1400690	1401382	688688	687996	597	f-2	1400693	1401374	330	TrkA	P	K+ transport systems	K+ 輸送系
1471	1401502	1401813	687876	687565	236	f-1	1401502	1401802	62	NtpF	C	Archaeal/vacuola r-type	古細菌/液胞型 H+-ATPアーゼ

1477	1406372	1407382	683006	681996	600	f-2	1406372	1407344	399	NtpA	C	subunit F Archaeal/vacuola r-type H ⁺ -ATPase subunit A	古細菌/液胞型 H ⁺ -ATPアーゼ サブユニット A
1478	1407475	1408257	681903	681121	239	f-1	1407475	1408255	481	NtpA	C	subunit F Archaeal/vacuola r-type H ⁺ -ATPase subunit A	古細菌/液胞型 H ⁺ -ATPアーゼ サブユニット A
1479	1408254	1409654	681124	679724	972	f-3	1408257	1409646	864	NtpB	C	subunit F Archaeal/vacuola r-type H ⁺ -ATPase subunit B	古細菌/液胞型 H ⁺ -ATPアーゼ サブユニット B
1480	1409674	1410327	679704	679051	240	f-1	1409683	1410316	318	NtpD	C	subunit F Archaeal/vacuola r-type H ⁺ -ATPase subunit D	古細菌/液胞型 H ⁺ -ATPアーゼ サブユニット D
1481	1410413	1411189	678965	678189	601	f-2	1410422	1411187	442	-	C	Uncharacterized flavoproteins	未同定フラビン タンパク質
1482	1411199	1411954	678179	677424	602	f-2	1411199	1411943	322	Tar	N	Methyl-accepting chemotaxis protein	メチル受容化学 走性 タンパク 質

1483	1411938	1413167	677440	676211	973	f-3	1411947	1413159	442	-	R	Predicted metal-dependent hydrolases related to alanyl-tRNA synthetase HxxxH domain	推定金属依存性ヒドロラーゼ、アラニル-tRNA シンセターゼ HxxxH ドメインに関連
1484	1413235	1413960	676143	675418	241	f-1	1413274	1413763	34	MetC	E	Cystathionine beta-lyases/ cystathionine gamma-synthase s	シスタチオニンβ-リアーゼ/シスタチオニンγ-シンターゼ
1485	1413935	1414642	675443	674736	603	f-2	1414058	1414295	30	AsnB	E	Asparagine synthase (glutamine-hydrolyzing)	アスパラギンシンターゼ (グルタミン-加水分解)
1486	1414943	1415797	674435	673581	604	f-2	1414952	1415792	507	-	R	Predicted metal-dependent hydrolases of the urease superfamily	ウレアーゼスーパーファミリーの推定金属依存性ヒドロラーゼ

1487	1415800	1418658	673578	670720	1214	r-1	1416094	1417195	315	GltD	E R	NADPH-depende nt glutamate synthase beta chain and related oxidoreductases COG0493 GltD	NADPH依存性 グルタミン酸シ ンターゼ β 鎖 および 関連オ キシドレダクタ ーゼ COG0493 GltD
1488	1418655	1420457	670723	668921	1597	r-2	1418700	1420224	632	NuoF	C	NADH:ubiquinone oxidoreductase	NADH:ユビキノ ン オキシドレダ クターゼ
1489	1420450	1420923	668928	668455	1213	r-1	1420489	1420888	150	NuoE	C	NADH:ubiquinone oxidoreductase 24 kD subunit	NADH:ユビキノ ンオキシドレダ クターゼ24 kD サブユニット
1490	1421049	1422080	668329	667298	1596	r-2	1421058	1422069	493	RCL1	K	RNA phosphate cyclase	RNA リン酸 シ クラーゼ
1491	1422217	1422759	667161	666619	242	f-1	1422355	1422448	30	SbcC	L	ATPase involved in DNA repair	DNA修復に関 与するATPアー ゼ
1492	1422740	1423594	666638	665784	1917	r-3	1423205	1423340	35	LysC	E	Aspartokinases	アスパルトキナ ーゼ
1493	1423617	1424129	665761	665249	1595	r-2	1423617	1424127	253	-	R	Predicted phosphoesterase	推定ホスホエス テラーゼ

1494	1424266	1424787	665112	664591	243	f-1	1424407	1424518	30	-	R	Uncharacterized CBS domain-containing proteins	未同定CBSド メイン含有タン パク質
1495	1424787	1428260	664591	661118	974	f-3	1424787	1425792	442	MCM2	L	Predicted ATPase involved in replication control	推定ATPアー ゼ、複製制御に 関与
1496	1428306	1428734	661072	660644	975	f-3	1428315	1428732	250	GCD7	J	Translation initiation factor eIF-2	翻訳 開始因子 eIF-2
1497	1428842	1430410	660536	658968	605	f-2	1429613	1430408	486	AccA	I	Acetyl-CoA carboxylase alpha subunit	アセチル-CoA カルボキシラー ゼ α サブユニ ット
1498	1430421	1430807	658957	658571	976	f-3	1430433	1430790	52	OadG	C	Na ⁺ -transporting methylmalonyl-C oA/oxaloacetate decarboxylase	Na ⁺ 輸送メチル マロニル-CoA/ オキサロ酢酸 デカルボキシラ ーゼ
1499	1430801	1431283	658577	658095	606	f-2	1430876	1431281	129	AccB	I	Biotin carboxyl carrier protein	ビオチン カル ボキシシル キャ リア タンパク質

1500	1431290	1432483	658088	656895	607	f-2	1431302	1432481	628	OadB	C	Na ⁺ -transporting methylmalonyl-C oA/oxaloacetate decarboxylase	Na ⁺ 輸送メチル マロニル-CoA/ オキサロ酢酸 デカルボキシラ ーゼ
1501	1432547	1433398	656831	655980	608	f-2	1432556	1433390	422	-	R	CBS domains	CBS ドメイン
1502	1433432	1434445	655946	654933	609	f-2	1433447	1434437	291	ThrA	E	Homoserine dehydrogenase	ホモセリン デヒ ドロゲナーゼ
1503	1434874	1435398	654504	653980	244	f-1	1434985	1435246	33	-	T	Periplasmic ligand-binding sensor domain	ペリプラスムリ グ および結合 セ ンサドメイン
1504	1435395	1436108	653983	653270	1594	r-2	1435434	1436022	315	-	R	C4-type Zn finger	C4型Zn フィン ガー
1505	1436180	1436593	653198	652785	1916	r-3	1436180	1436591	124	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1506	1436645	1436935	652733	652443	1915	r-3	1436774	1436900	31	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
1507	1436958	1437776	652420	651602	1593	r-2	1436958	1437774	418	-	J	RNase PH-related exoribonuclease	RNアーゼPH- 関連エキソリボ ヌクレアーゼ
1508	1437769	1438527	651609	650851	1212	r-1	1437778	1438525	467	Rph	J	RNase PH	RNアーゼPH

1509	1438502	1439275	650876	650103	1914	r-3	1438502	1439237	411	RRP4	J	RNA-binding protein Rrp4 and related proteins (contain S1 domain and KH domain)	RNA結合 タン パク質 Rrp4 および 関連タ ンパク質 (S1 ドメイン および KH ドメインを 含む)
1510	1439272	1439982	650106	649396	1211	r-1	1439272	1439980	424	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1511	1439994	1440776	649384	648602	1592	r-2	1439994	1440774	389	HsIV	O	Proteasome protease subunit	プロテアソーム プロテアーゼ サブユニット
1512	1441115	1441582	648263	647796	610	f-2	1441115	1441553	219	Hit	F G R	Diadenosine tetraphosphate (Ap4A) hydrolase and other HIT family hydrolases COG0537 Hit	ジアデノシン四 リン酸 (Ap4A) ヒドロラーゼ お よび 他HIT ファミリー ヒド ロラーゼ COG0537 Hit
1513	1441557	1441976	647821	647402	1591	r-2	1441659	1441965	99	MazG	R	Predicted pyrophosphatase	推定ピロホスフ アターゼ
1514	1441888	1442184	647490	647194	1210	r-1	1441981	1442116	30	SerC	H E	Phosphoserine aminotransferase	ホスホセリンア ミノトランスフェ

1515	1442268	1442525	647110	646853	977	f-3											COG1932 SerC	ラーゼ COG1932 SerC
1516	1442602	1444524	646776	644854	245	f-1	1442671	1443574	550	PorA	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredoxin oxidoreductases						ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ
1517	1444521	1444967	644857	644411	1590	r-2	1444521	1444953	102	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein						推定核酸結合 タンパク質
1518	1445288	1446001	644090	643377	1913	r-3	1445507	1445840	31	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system						ABC型多剤輸 送系
1519	1446421	1446744	642957	642634	1209	r-1	1446487	1446610	28	-	S	Uncharacterized ACR						未同定ACR
1520	1447018	1447827	642360	641551	246	f-1	1447057	1447756	221	PerM	R	Predicted permease						推定パーミア ーゼ
1521	1447763	1448299	641615	641079	1912	r-3	1447763	1448297	325	PncA	Q	Amidases related to nicotinamidase						アミダーゼ 関 連to ニコチン

1529	1453739	1453954	635639	635424	613	f-2	1453805	1453904	28	CheA	N	Chemotaxis protein histidine kinase and related kinases	化学走性タン パク質 ヒスチ ジン キナーゼ および 関連キ ナーゼ
1530	1454658	1454753	634720	634625	1587	r-2							
1531	1455780	1457495	633598	631883	1586	r-2	1456269	1456545	33	LAP4	E	Aspartyl aminopeptidase	アスパルチル アミノペプチダ ーゼ
1532	1458373	1458516	631005	630862	1208	r-1							
1533	1460859	1461371	628519	628007	1585	r-2	1461048	1461270	30	GlnQ	E	ABC-type polar amino acid transport system	ABC型極性アミ ノ酸輸送系
1534	1461343	1461726	628035	627652	1207	r-1	1461454	1461613	30	UvrA	L	Excinuclease ATPase subunit	エキシヌクレア ーゼ ATPア ーゼサブユニット
1535	1462494	1463108	626884	626270	1584	r-2	1462509	1462680	28	VacB	K	Exoribonucleases	エキソリボヌク レアーゼ
1536	1463105	1464283	626273	625095	1910	r-3	1463141	1464236	580	FtsZ	D	Cell division GTPase	細胞分裂 GTP アーゼ
1537	1464255	1466492	625123	622886	1583	r-2	1464516	1464702	35	RnhA	L	Ribonuclease HI	リボヌクレア ーゼ HI
1538	1466599	1467609	622779	621769	1206	r-1	1466614	1467604	607	-	C	Fe-S	Fe-S オキシド

													oxidoreductases	レダクターゼ
1539	1467655	1467744	621723	621634	248	f-1								
1540	1467769	1467906	621609	621472	249	f-1								
1541	1467891	1468676	621487	620702	1582	r-2	1468092	1468650	200	HemK	J	Predicted rRNA or tRNA methylase	推定rRNA または tRNA メチラーゼ	
1542	1468498	1469019	620880	620359	1205	r-1	1468501	1469002	255	-	R	Conserved protein/domain typically associated with flavoprotein oxygenases	保存タンパク質 /ドメイン、フラビンタンパク質 オキシゲナーゼと代表的に関与	
1543	1469265	1470533	620113	618845	979	f-3	1469331	1470465	343	AprE	O	Subtilisin-like serine proteases	スブチリシン様 セリン プロテアーゼ	
1544	1470609	1471790	618769	617588	1581	r-2	1470618	1471788	664	PncB	H	Nicotinic acid phosphoribosyltransferase	ニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ	
1545	1471812	1471937	617566	617441	1580	r-2								

1546	1471870	1472673	617508	616705	250	f-1	1471912	1472653	149	FabG	Q R	Dehydrogenases with different specificities (related to short-chain alcohol dehydrogenases) COG1028 FabG	異なる特異性を 有するデヒドロ ゲナーゼ(短鎖 アルコールデヒ ドロゲナーゼに 関連) COG1028 FabG
1547	1474731	1474928	614647	614450	1579	r-2	1474809	1474893	27	Pcm	O	Protein-L-isoasp artate carboxylmethyltra nsferase	タンパク質-L- イソアスパラギ ン酸カルボキシ ルメチルトラン スフェラーゼ
1548	1475072	1475983	614306	613395	1909	r-3	1475084	1475972	427	-	R	Predicted hydrolase of the metallo-beta-lact amase superfamily	メタロ-β-ラク タマーゼ スー パーファミリー の推定ヒドロラ ーゼ
1549	1477107	1477574	612271	611804	980	f-3	1477110	1477398	30	DeoR	K	Transcriptional regulator	転写レギュレー ター

1550	1477584	1479029	611794	610349	1578	r-2	1477599	1479027	735	GitD	E R	NADPH-depende nt glutamate synthase beta chain, and related oxidoreductases COG0493 GitD	NADPH依存性 グルタミン酸シ ンターゼ β 鎖 および 関連オ キシドレダクタ ーゼ COG0493 GitD
1551	1479030	1479884	610348	609494	1577	r-2	1479030	1479882	446	UbiB	H C	2-polyprenylphen ol hydroxylase and related flavodoxin oxidoreductases [~] COG0543 UbiB	2-ポリプリプレニル フェノール ヒド ロキシラーゼ および 関連フ ラボドキシン オ キシドレダクタ ーゼ [~] COG0543 UbiB
1552	1480088	1480873	609290	608505	614	f-2	1480088	1480871	429	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1553	1480960	1481781	608418	607597	1204	r-1	1480960	1481779	378	CysK	E	Cysteine synthase	システイン シン ターゼ
1554	1481753	1481869	607625	607509	1908	r-3	1481759	1481840	31	CysK	E	Cysteine synthase	システイン シン ターゼ
1555	1482049	1482780	607329	606598	1203	r-1	1482049	1482757	382	-	K	Predicted transcriptional	推定転写レギュ レーター

1556	1484422	1486413	604956	602965	251	f-1	1484950	1485667	224	AprE	O	Subtilisin-like serine proteases	スブチリシン様 セリン プロテア ーゼ
1557	1486448	1488211	602930	601167	615	f-2	1487183	1487729	33	SqhC	I	Squalene cyclase	スクアレン シク ラーゼ
1558	1488253	1489308	601125	600070	1202	r-1	1488253	1489306	553	-	R	Predicted methyltransferas es	推定メチルトラ ンスフェラーゼ
1559	1489417	1490157	599961	599221	252	f-1	1489417	1490146	257	-	R	Uncharacterized ATPases of the PP-loop superfamily	PP-ループスー パーファミリー の未同定ATP アーゼ
1560	1490211	1490753	599167	598625	981	f-3	1490298	1490748	206	PaaD	R	Putative aromatic ring hydroxylating enzyme	推定 芳香族環 水酸化酵素
1561	1490896	1491087	598482	598291	253	f-1	1490896	1491073	99	Fer	C	Ferredoxin 1	フェレドキシン1
1562	1491222	1491395	598156	597983	1576	r-2	1491249	1491393	103	RPS31	J	Ribosomal protein S27AE	リボソーム タン パク質 S27AE
1563	1491406	1491738	597972	597640	1201	r-1	1491442	1491733	159	RPS24 A	J	Ribosomal protein S24E	リボソーム タン パク質 S24E
1564	1491692	1492225	597686	597153	1907	r-3	1491692	1492217	199	-	S	Uncharacterized	未同定ArCR

												ArCR	
1565	1492222	1492431	597156	596947	1200	r-1	1492237	1492426	99	-	K	DNA-directed RNA polymerase subunit E''	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼサブユニット E''
1566	1492428	1493000	596950	596378	1575	r-2	1492428	1492941	261	RPB7	K	DNA-directed RNA polymerase subunit E'	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼサブユニット E'
1567	1493037	1493573	596341	595805	1574	r-2	1493037	1493571	312	Ppa	C	Inorganic pyrophosphatase	無機ピロホスフ アターゼ
1568	1493631	1494593	595747	594785	1573	r-2	1494243	1494420	33	AcnA	C	Aconitase A	アコニターゼ A
1569	1494613	1495560	594765	593818	1199	r-1	1494913	1495111	33	-	T	GAF domain-contains g proteins	GAF ドメイン含 有タンパク質
1570	1495557	1496564	593821	592814	1572	r-2	1495563	1496529	235	LepB	N	Signal peptidase I	シグナルペプチ ダーゼ I
1571	1496677	1497216	592701	592162	1198	r-1	1496755	1496977	32	LeuA	E	Isopropylmalate/ homocitrate/citra malate synthases	イソプロピルリ ンゴ酸/ホモク エン酸/シトラリ ンゴ酸 シンタ ーゼ

1572	1497231	1497902	592147	591476	1571	r-2	1497582	1497816	33	-	H	6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase	6-ピルビルレート トラヒドロプテリン シンターゼ
1573	1498015	1498506	591363	590872	1197	r-1	1498126	1498402	31	DcuC	C	C4-dicarboxylate transporter	C4-dカルボキシル酸 トランス ポーター
1574	1499893	1500954	589485	588424	1196	r-1	1500004	1500946	498	WcaG	M G	Nucleoside-diphosphate-sugar epimerases COG0451 WcaG	ヌクレオシド-ジリン酸-糖 エピ メラーゼ COG0451 WcaG
1575	1500975	1501334	588403	588044	982	f-3	1500978	1501332	167	-	R	Predicted nucleotidyltransferases	推定ヌクレオチ ジルトランスフェ ラーゼ
1576	1501234	1501755	588144	587623	254	f-1	1501312	1501732	222	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1577	1501752	1502747	587626	586631	983	f-3	1501752	1502745	510	GCD1	M J	Nucleoside-diphosphate-sugar pyrophosphorylases involved in lipopolysaccharide biosynthesis/transport	リポポリサッカ リド生成に関 与するヌクレオ シド-ジリン酸- 糖ピロホスホリ ラーゼ/翻訳 開始因子eIF2B

1578	1502782	1504029	586596	585349	255	f-1	1502782	1503988	650	RfbX	R	station initiation factor eIF2B subunits COG1208 GCD1	サブユニット COG1208 GCD1
1579	1503705	1503881	585673	585497	1570	r-2	1503741	1503867	27	CysN	P	Membrane protein involved in the export of O-antigen and teichoic acid	O-抗原 および テイコイン酸の 輸送に関与す る膜タンパク質
1580	1506454	1507683	582924	581695	256	f-1	1506496	1507669	617	TagB	M	Putative glycosyl/glycerop hosphate transferases involved in teichoic acid	GTPアーゼ - 硫酸塩 アデニ ル酸トランスフ ェラーゼ サブ ユニット 1 テイコイン酸生 合成 TagF/TagB/Ep sJ/RodCに関 与する推定 グ リコシル/グリセ

1586	1515877	1516842	573501	572536	258	f-1	1516165	1516792	93	RfaG	M	Predicted glycosyltransferases	推定グリコシルトランスフェラーゼ
1587	1518510	1518569	570868	570809	1569	r-2							
1588	1519816	1521600	569562	567778	259	f-1	1520431	1520620	32	LoIA	M	Outer membrane lipoprotein-sorting protein	外膜リポタンパク質-ソーティングタンパク質
1589	1519824	1519925	569554	569453	1568	r-2							
1590	1521735	1522592	567643	566786	985	f-3	1521990	1522401	37	HsdR	L	Restriction enzymes type I helicase subunits and related helicases	制限酵素I型ヘリカーゼ サブユニット および関連ヘリカーゼ
1591	1523210	1524667	566168	564711	618	f-2	1523219	1523624	31	-	S	Uncharacterized membrane-associated protein/domain	未同定膜会合タンパク質/ドメイン
1592	1525075	1526076	564303	563302	260	f-1	1525372	1525714	35	-	S	Predicted archaeal membrane protein	推定古細菌膜タンパク質
1593	1526066	1526449	563312	562929	1905	r-3	1526066	1526432	84	RfaG	M	Predicted glycosyltransferases	推定グリコシルトランスフェラーゼ

1594	1529489	1530295	559889	559083	619	f-2	1529501	1530284	389	NagD	G	Predicted sugar phosphatases of the HAD superfamily	HAD スーパーファミリーの推定糖ホスファターゼ
1595	1530296	1530733	559082	558645	620	f-2	1530557	1530722	33	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1596	1530894	1536164	558484	553214	986	f-3	1534812	1536162	744	NrdA	F	Ribonucleotide reductase alpha subunit	リボヌクレオチドレダクターゼ α サブユニット
1597	1536298	1536771	553080	552607	261	f-1	1536307	1536769	230	-	R	Predicted phosphoribosyltransferases	推定ホスホリボシルトランスフェラーゼ
1598	1536811	1537365	552567	552013	262	f-1	1536811	1537363	268	LigT	J	2'-5' RNA ligase	2'-5' RNA リガターゼ
1599	1540326	1541702	549052	547676	987	f-3	1540326	1541697	582	CCA1	J	tRNA nucleotidyltransferase (CCA-adding enzyme)	tRNA スクレオチジルトランスフェラーゼ (CCA-付加酵素)
1600	1541901	1543691	547477	545687	1567	f-2	1542636	1542834	33	Gmd	M	GDP-D-mannose dehydratase	GDP-D-マンノースデヒドラーターゼ

1601	1543754	1544062	545624	545316	621	f-2	1543862	1544054	28	DPH2	J	Diphthamide synthase subunit DPH2	ジフタミド シン ターゼ サブユ ニット DPH2
1602	1544093	1544920	545285	544458	622	f-2	1544096	1544915	261	RhaT	G E R	Permeases of the drug/metabolite transporter (DMT) superfamily COG0697 RhaT	薬剤のパーマミア ーゼ/代謝産物 トランスポータ ー (DMT) スー パーファミリ ー COG0697 RhaT
1603	1544970	1545347	544408	544031	988	f-3	1545231	1545324	32	-	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR
1604	1545432	1545968	543946	543410	1566	r-2	1545432	1545966	183	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1605	1546165	1549362	543213	540016	263	f-1	1546165	1549360	1910	IleS	J	Isoleucyl-tRNA synthetase	インロイシル -tRNA シンセ ターゼ
1606	1549370	1549522	540008	539856	1904	r-3	1549385	1549490	27	CobQ	H	Cobyrinic acid synthase	コピリン酸シン ターゼ
1607	1550195	1551454	539183	537924	1903	r-3	1550882	1551290	32	BaeS	T	Sensory transduction histidine kinases	感覚器 伝達ヒ スチジン キナ ーゼ
1608	1551384	1551506	537994	537872	989	f-3							

1609	1551637	1552008	537741	537370	1195	r-1	1551637	1552006	162	VapC	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合タンパク質
1610	1551975	1552217	537403	537161	1565	r-2	1551975	1552212	105	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1611	1552330	1553088	537048	536290	264	f-1	1552351	1552525	33	QcrB	C	Cytochrome b subunit of the bc complex	bc 複合体のシトクロムb サブユニット
1612	1553108	1555480	536270	533898	1902	r-3	1553126	1555466	1072	LacA	G	Beta-galactosidase (exo-beta-D-glucoaminidase)	β -ガラクトシダーゼ(エキソ- β -D-グルコサミニダーゼ)
1613	1555474	1556295	533904	533083	1194	r-1	1555474	1556287	359	AgaS	M	Predicted phosphosugar isomerases	推定ホスホ糖イソメラーゼ
1614	1556455	1557438	532923	531940	1193	r-1	1556482	1557424	491	OppF	E P	ABC-type dipeptide/oligopeptide/nickel transport system	ABC型ジペプチド/オリゴペプチド/ニッケル輸送系
1615	1557416	1558507	531962	530871	1901	r-3	1557539	1558493	497	DppD	E P	ABC-type dipeptide/oligopeptide/nickel transport system	ABC型ジペプチド/オリゴペプチド/ニッケル輸送系

1616	1558390	1559334	530988	530044	1192	r-1	1558408	1559320	357	DppC	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1617	1559337	1560350	530041	529028	1564	r-2	1559364	1560345	529	DppB	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1618	1560382	1561011	528996	528367	1191	r-1	1560382	1560955	219	OppA	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1619	1561392	1562597	527986	526781	1563	r-2	1561392	1562439	468	OppA	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel. transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1620	1562832	1564286	526546	525092	990	f-3	1562838	1564281	790	BglB	G	Beta-glucosidase /6-phospho-beta -glucosidase/bet	β -グルコシダ ーゼ/6-ホスホ - β -グルコシダ

																			a- galactosidase	一ゼ/β- ガラ クトシダーゼ
1621	1564489	1564938	524889	524440	265	f-1	1564489	1564933	158	VapC	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合 タンパク質							
1622	1564960	1565772	524418	523606	1190	r-1	1564972	1565767	355	-	S	deacetylase	デアセチラーゼ							
1623	1565943	1569653	523435	519725	991	f-3	1566258	1567437	330	ChiA	G	Chitinase	キチナーゼ							
1624	1569699	1571144	519679	518234	1562	r-2	1570038	1571139	557	-	R	Uncharacterized ACR related to pyruvate formate-lyase activating enzyme	未同定ACR 関 連to ピルビン 酸 蟻酸塩-リア 一ゼ活性化酵 素							
1625	1570858	1571220	518520	518158	266	f-1	1570867	1571218	169	POP5	L	RNase P subunit P14 and its archaeal orthologs	RNア一ゼP サ ブユニット P14 および その古 細菌オルソログ							
1626	1571217	1572563	518161	516815	1561	r-2	1571217	1572540	557	GlgA	G	Glycogen synthase	グリコーゲン シ ンターゼ							
1627	1572612	1573637	516766	515741	1560	r-2	1572624	1573587	119	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュ レーター							

1637	1585646	1586575	503732	502803	1900	r-3	1585760	1586573	431	PhnP	R	Metal-dependent hydrolases of the beta-lactamase superfamily I	β-ラクタマー ゼ スーパー ファミリー I の金 属依存性ヒドロ ラーゼ
1638	1586361	1588547	503017	500831	995	f-3	1586673	1588470	865	-	S	Uncharacterized membrane protein	未同定膜タンパ ク質
1639	1588597	1588962	500781	500416	270	f-1	1588741	1588915	31	LysR	K	Transcriptional regulator	転写レギュレー ター
1640	1588919	1590214	500459	499164	625	f-2	1588952	1590212	639	ArgE	E	Acetylornithine deacetylase/Suc cinyl-diaminopime late desuccinylase and related deacylases	アセチルオルニ チンデアセチラ ーゼ/スクシニ ル-ジアミノピメ リン酸デスグシ ニラーゼ およ び 関連デアシ ラーゼ
1641	1590298	1591578	499080	497800	271	f-1	1590586	1590886	31	ThrS	J	Threonyl-tRNA synthetase	トレオニル -tRNA シンセ ターゼ
1642	1591902	1592372	497476	497006	1558	r-2	1592157	1592334	29	BglC	G	Endoglucanase	エンドグルカナ ーゼ

1643	1592769	1593515	496609	495863	996	f-3	1592769	1593501	411	SmtA	Q	SAM-dependent methyltransferases COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼCOG0500 SmtA
1644	1593682	1594884	495696	494494	1189	r-1	1593694	1594882	644	-	R	Predicted SAM-dependent methyltransferases	推定SAM依存 性メチルトラン スフェラーゼ
1645	1595017	1595325	494361	494053	272	f-1	1595017	1595104	30	-	R	Predicted phosphate-binding enzymes	推定リン酸結合 酵素
1646	1596465	1597058	492913	492320	1557	r-2	1596477	1596711	30	DltE	R	Short-chain dehydrogenases of various substrate specificities	種々の基質特 異性の短鎖デ ヒドロゲナーゼ
1647	1597751	1598509	491627	490869	1899	r-3	1597778	1598507	387	RAD55	T	RecA-superfamily ATPases implicated in signal transduction	RecAスーパー ファミリー ATP アーゼ、シグナ ル伝達に関連
1648	1598676	1599902	490702	489476	997	f-3	1598700	1599873	396	PR12	L	Eukaryotic-type DNA primase	真核生物型 DNA プライマ

1649	1599886	1600935	489492	488443	273	f-1	1599904	1600903	474	PR11	L	Eukaryotic-type DNA primase	真核生物型 DNA プライマ ーゼ
1650	1601220	1601777	488158	487601	998	f-3	1601223	1601760	67	RhaT	G	Permeases of the drug/metabolite transporter (DMT) superfamily COG0697 RhaT	薬剤のパーミア ーゼ/代謝産物 トランスポータ ー (DMT) スー パーファミリー COG0697 RhaT
1651	1603727	1603786	485651	485592	626	f-2							
1652	1604088	1604264	485290	485114	1556	r-2	1604088	1604154	26	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1653	1604708	1606048	484670	483330	627	f-2	1604768	1606046	714	GlnA	E	Glutamine synthase	グルタミン シン ターゼ
1654	1606039	1606902	483339	482476	1188	r-1	1606045	1606855	363	RhaT	G	Permeases of the drug/metabolite transporter (DMT) superfamily COG0697 RhaT	薬剤のパーミア ーゼ/代謝産物 トランスポータ ー (DMT) スー パーファミリー COG0697 RhaT
1655	1606912	1607685	482466	481693	1187	r-1	1606921	1607683	375	NadE	H	NAD synthase	NAD シンター

1656	1607663	1607971	481715	481407	1898	r-3	1607762	1607855	30	FUJ1	F H	Cytosine/uracil/t hiamine/allantoin permeases COG1953 FUJ1	シトシン/ウラシ ル/チアミン/ア ラントインパーミ アーゼ COG1953 FUJ1
1657	1608213	1609220	481165	480158	1555	r-2	1608213	1609215	592	OppF	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport system	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1658	1609231	1610190	480147	479188	1186	r-1	1609231	1610188	581	DppD	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport system	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1659	1610202	1611623	479176	477755	1554	r-2	1610202	1611618	657	DppC	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1660	1611635	1612684	477743	476694	1897	r-3	1611635	1612673	540	DppB	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系

1661	1612865	1615312	476513	474066	1896	r-3	1613654	1614983	57	OppA	E	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニッケル輸 送系
1662	1615653	1616882	473725	472496	999	f-3	1615659	1616868	523	PyrC	F	Dihydroorotase	ジヒドロオロタ ーゼ
1663	1616860	1617561	472518	471817	274	f-1	1616860	1617553	338	UbiB	H	2-polyprenylphen ol hydroxylase and related flavodoxin oxidoreductases COG0543 UbiB	2-ポリプレニル フェノール ヒド ロキシラーゼ および 関連フ ラボドキシン オ キシドレダクタ ーゼ~ COG0543 UbiB
1664	1617558	1618517	471820	470861	1000	f-3	1617615	1618512	516	-	R	Predicted Fe-S oxidoreductases	推定Fe-S オキ シドレダクター ゼ
1665	1617756	1617815	471622	471563	1553	r-2							

1666	1618578	1619276	470800	470102	1001	f-3	1618647	1619130	33	DppC	E	ABC-type dipeptide/oligopeptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニッケル輸 送系
1667	1619263	1621227	470115	468151	1185	r-1	1619266	1621183	975	-	G	Alpha-amylase/al pha-mannosidase (4-alpha-glucano transferase)	α -アミラーゼ/ α -マンノシダ ーゼ(4- α -グ ルカノトランスフ ェラーゼ)
1668	1621305	1621934	468073	467444	1552	r-2	1621305	1621890	216	SEC59	I	Dolichol kinase	ドリコールキナ ーゼ
1669	1622735	1622920	466643	466458	628	f-2	1622735	1622909	33	-	S	Uncharacterized archaeal membrane protein	未同定古細菌 膜タンパク質
1670	1622922	1624112	466456	465266	1002	f-3	1622940	1624086	499	KefB	P	Kef-type K+ transport systems	Kef型K+ 輸送 系
1671	1624133	1625287	465245	464091	629	f-2	1624136	1625279	536	GadB	E	Glutamate decarboxylase and related PLP-dependent proteins	グルタミン酸デ カルボキシラー ゼ および 関 連PLP依存性タ ンパク質

1672	1625321	1625563	464057	463815	630	f-2	1625339	1625441	39	-	K	Predicted transcriptional regulators containing the CopG/Arc/MetJ DNA-binding domain	CopG/Arc/MetJ DNA結合ドメインを含む推定転写レギュレーター
1673	1625628	1625717	463750	463661	1003	f-3	1625631	1625709	30	MazF	T	Growth inhibitor	増殖インヒビター
1674	1625816	1625929	463562	463449	631	f-2							
1675	1625919	1626824	463459	462554	1551	r-2	1625964	1626810	346	MMT1	P	Predicted Co/Zn/Cd cation transporters	推定Co/Zn/Cd カチオントランスポーター
1676	1627009	1627614	462369	461764	1184	r-1	1627279	1627477	32	RpoB	K	DNA-directed RNA polymerase beta subunit/140 kD subunit (split gene in Mjan	DNA指向性 RNA ポリメラーゼ β サブユニット/140 kD サブユニット (split gene in Mjan
1677	1627793	1629337	461585	460041	632	f-2	1627817	1629101	316	RfbX	R	Membrane protein involved in the export of O-antigen and	O-抗原 および テイコイン酸の輸送に関与する膜タンパク質

1683	1634125	1634739	455253	454639	276	f-1	1634227	1634494	33	AraJ	G	Arabinose efflux permease	アラビノース エフラックスパーミナーゼ
1684	1634253	1634369	455125	455009	1550	r-2	1634256	1634337	27	SUL1	P	Sulfate permease and related transporters (MFS superfamily)	硫酸塩 パーミナーゼ および関連トランスポーター(MFSスーパーファミリー)
1685	1634744	1635046	454634	454332	633	f-2	1634744	1635005	108	MarR	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター
1686	1635049	1636365	454329	453013	1183	r-1	1635139	1636348	703	BglB	G	Beta-glucosidase /6-phospho-beta-glucosidase/beta-galactosidase	β -グルコシダーゼ/6-ホスホ- β -グルコシダーゼ/ β -ガラクトシダーゼ
1687	1636376	1637356	453002	452022	634	f-2	1636376	1637351	544	GalT	C	Galactose-1-phosphate uridylyltransferase	ガラクトース-1-リン酸 ウリジリルトランスフェラーゼ
1688	1637336	1638673	452042	450705	1894	r-3	1637342	1638653	675				
1689	1638670	1639755	450708	449623	1182	r-1	1638670	1639744	536	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

1690	1639752	1640816	449626	448562	1549	r-2	1639764	1640805	404	Galk	G	Galactokinase	ガラクトキナーゼ
1691	1640937	1641557	448441	447821	1548	r-2	1641177	1641468	34	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク質
1692	1641581	1643545	447797	445833	1893	r-3	1641581	1643381	744	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1693	1643712	1644038	445666	445340	1007	f-3	1643826	1644036	33	ArgS	J	Arginyl-tRNA synthetase	アルギニル-tRNA シンセターゼ
1694	1644035	1644664	445343	444714	1892	r-3	1644044	1644641	198	Pcp	O	Pyroglutamate carboxylate peptidase (N-terminal pyroglutamate peptidase)	ピロリドン-カルボキシル酸 ペプチダーゼ(N末端ピログルタミン ペプチダーゼ)
1695	1644711	1645832	444667	443546	1008	f-3	1644717	1645830	464	FixC	C	Dehydrogenases (flavoproteins)	デヒドロゲナーゼ (フラビンタンパク質)
1696	1645842	1646195	443536	443183	1009	f-3	1645923	1646169	33	BisC	C	Anaerobic dehydrogenases	嫌気性デヒドロゲナーゼ
1697	1646550	1647749	442828	441629	1010	f-3	1647372	1647549	32	UgpB	G	Sugar-binding periplasmic proteins/domains	糖結合 ペリプラズマタンパク質/ドメイン

1698	1651192	1652691	438186	436687	1181	r-1	1651192	1652689	865	-	E	Zn-dependent carboxypeptidase s	Zn依存性カル ボキシペプチダ ーゼ
1699	1652842	1653462	436536	435916	277	f-1	1652848	1653448	222	-	L	Predicted site-specific integrinase-resolve se	推定部位特異 的インテグラー ゼ-レソルバー ゼ
1700	1653443	1654624	435935	434754	635	f-2	1653509	1654499	137	-	L	Predicted transposases	推定トランスポ ザーゼ
1701	1654676	1655512	434702	433866	636	f-2	1654808	1655423	74	RbsK	G	Sugar kinases	糖 キナーゼ
1702	1655924	1656976	433454	432402	1891	r-3	1655990	1656971	407	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1703	1657257	1658210	432121	431168	1547	r-2	1657269	1658208	465	-	R	MoxR-like ATPases	MoxR様ATPア ーゼ
1704	1658633	1658857	430745	430521	1890	r-3	1658633	1658831	97	PppA	N	Signal peptidase	シグナルペプチ ダーゼ
1705	1659540	1660034	429838	429344	1011	f-3	1659564	1659858	32	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1706	1660137	1660616	429241	428762	1012	f-3	1660143	1660560	142	SlpA	O	FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerases 2	FKBP型ペプチ ジル-プロリル シス-トランス イソメラーゼ 2

1707	1660605	1661033	428773	428345	1546	r-2	1660605	1661031	155	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
1708	1661293	1661439	428085	427939	278	f-1							
1709	1661519	1662583	427859	426795	1889	r-3	1661531	1662581	392	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク 質
1710	1662585	1666019	426793	423359	1545	r-2	1663962	1665537	735	-	L	Inteins	インテン
1711	1666185	1666505	423193	422873	1544	r-2	1666254	1666413	29	AcoA	C	Thiamine pyrophosphate-d ependent dehydrogenases	チアミンピロリ ン酸依存性デヒ ドロゲナーゼ
1712	1667046	1668500	422332	420878	1543	r-2	1667046	1668477	231	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1713	1668573	1668914	420805	420464	1013	f-3	1668708	1668849	30	-	L	Predicted transposase	推定トランスポ ザーゼ
1714	1668871	1669944	420507	419434	279	f-1	1668952	1669942	506	-	R	Predicted GTPases	推定GTPア ーゼ
1715	1669941	1671896	419437	417482	1542	r-2	1670538	1670883	48	-	R	ABC-type transport systems	ABC型輸送系
1716	1671856	1672545	417522	416833	1180	r-1	1671859	1672504	200	PhnL	R	ABC-type transport systems	ABC型輸送系
1717	1672642	1672686	416736	416692	1179	r-1							

1718	1672713	1673096	416665	416282	1541	r-2	1672713	1673079	144	DppC	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1719	1673965	1674999	415413	414379	1178	r-1	1673965	1674997	226	DppB	E P	ABC-type dipeptide/oligope ptide/nickel transport systems	ABC型ジペプチ ド/オリゴペプチ ド/ニックケル輸 送系
1720	1675448	1676545	413930	412833	637	f-2	1675448	1676543	556	-	L	Predicted N6-adenine-spec ific DNA methylases	推定N6-アデニ ン-特異的DNA メチラーゼ
1721	1676630	1677790	412748	411588	638	f-2	1676780	1677785	572	PstS	P	ABC-type phosphate transport system	ABC型リン酸 輸送系
1722	1677812	1678636	411566	410742	639	f-2	1677812	1678583	259	IolE	G	Sugar phosphate isomerases/epim erases	糖 リン酸 イソ メラーゼ/エピメ ラーゼ
1723	1678705	1679553	410673	409825	280	f-1	1678705	1679548	414	PstC	P	ABC-type phosphate transport system	ABC型リン酸 輸送系

1724	1679540	1680370	409838	409008	640	f-2	1679555	1680299	326	PstA	P	ABC-type phosphate transport system	ABC型リン酸 輸送系
1725	1680367	1681128	409011	408250	281	f-1	1680373	1681126	395	PstB	P	ABC-type phosphate transport system	ABC型リン酸 輸送系
1726	1681383	1681730	407995	407648	1014	f-3	1681476	1681683	44	PhoU	P	Phosphate uptake regulator	リン酸 取り込 み レギュレー ター
1727	1681740	1682333	407638	407045	1015	f-3	1681740	1682328	251	PhoU	P	Phosphate uptake regulator	リン酸 取り込 み レギュレー ター
1728	1682428	1682817	406950	406561	282	f-1	1682536	1682704	33	WcaA	M	Glycosyltransfera ses involved in cell wall biogenesis	細胞壁 生合成 に関与するグリ コシルトランス フェラーゼ
1729	1682818	1683495	406560	405883	1177	r-1	1682821	1683493	387	MhpD	Q	2-keto-4-penten oate hydratase/2-oxo hepta-3-ene-1	2-ケト-4-ペン テン酸 ヒドドラ ターゼ/2-オキシ ヘプタ-3-エン -1
1730	1683568	1684578	405810	404800	1176	r-1	1683847	1684462	56	PepN	E	Aminopeptidase N	アミノペプチダ ーゼN

1731	1684439	1684564	404939	404814	641	f-2	1684475	1684559	26	Lon	O	ATP-dependent Lon protease	ATP依存性Lon プロテアーゼ
1732	1685535	1686689	403843	402689	1540	r-2	1685535	1686684	652	TrpS	J	Tryptophanyl-tR NA synthetase	トリプトファンリ -tRNA シンセ ターゼ
1733	1686869	1687045	402509	402333	642	f-2	1686875	1687043	62	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1734	1687089	1687931	402289	401447	1016	f-3	1687152	1687899	185	RhaT	G	Permeases of the drug/metabolite transporter (DMT) superfamily COG0697 RhaT	薬剤のパーミア ーゼ/代謝産物 トランスポータ ー (DMT) スー パーファミリー COG0697 RhaT
1735	1687932	1689299	401446	400079	1539	r-2	1687932	1689249	416	-	R	Predicted ATPase of the AAA superfamily	AAA スーパー ファミリーの推 定ATPアーゼ
1736	1689399	1690175	399979	399203	1017	f-3	1689399	1690173	345	PhnP	R	Metal-dependent hydrolases of the beta-lactamase superfamily I	β-ラクタマー ゼ スーパーフ ァミリー Iの金 属依存性ヒドロ ラーゼ
1737	1691003	1692442	398375	396936	1888	r-3	1691042	1692428	796	-	C	Acyl-CoA synthetase (NDP)	アシル-CoA シ ンセターゼ

																		ター
1745	1699092	1699178	390286	390200	1019	f-3												
1746	1699622	1700173	389756	389205	1887	r-3	1699640	1700171	246	-	S	Uncharacterized ACR related to the C-terminal domain of histone macroH2A1	未同定ACR、ヒストンマクロH2A1の C末端ドメインに関連					
1747	1700210	1701493	389168	387885	1886	r-3	1700210	1701479	464	SsnA	F R	Cytosine deaminase and related metal-dependent hydrolases	シトシン デアミナーゼ および関連金属依存性ヒドロラーゼ COG0402 SsnA					
1748	1703531	1704163	385847	385215	647	f-2	1703534	1704155	92	-	R	Predicted transglutaminase-like proteases	推定トランスグルタミナーゼ様プロテアーゼ					
1749	1704224	1704970	385154	384408	1885	r-3	1704326	1704965	243	GckA	G	Putative glycerate kinase	推定 グリセリン酸 キナーゼ					
1750	1704989	1705141	384389	384237	1884	r-3	1704989	1705127	25	-	S	Uncharacterized membrane protein	未同定膜タンパク質					
1751	1705367	1706314	384011	383064	1883	r-3	1705532	1706312	441	Pnp	F	Purine nucleoside phosphorylase	プリンヌクレオシド ホスホリラ					

1752	1706139	1706984	383239	382394	1020	f-3	1706256	1706982	384	-	R	Archaeal enzymes of ATP-grasp superfamily	ATP-grasp スーパーファミリーの古細菌酵素
1753	1706986	1707378	382392	382000	283	f-1	1706995	1707373	151	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1754	1707375	1708133	382003	381245	1536	r-2	1707387	1708125	346	-	L	Predicted nuclease of the RecB family	RecB ファミリー の推定ヌクレアーゼ
1755	1708168	1710714	381210	378664	1175	r-1	1710097	1710712	349	RecA	L	RecA/RadA recombinase	RecA/RadA リコンビナーゼ
1756	1710855	1711487	378523	377891	1535	r-2	1710987	1711224	54	Kch	P	Kef-type K ⁺ transport systems	Kef型K ⁺ 輸送系
1757	1712778	1714040	376600	375338	1021	f-3	1712805	1713984	651	CDC6	L	Cdc6-related protein	Cdc6-関連タンパク質
1758	1714040	1716247	375338	373131	648	f-2	1714652	1716230	621	HYS2	L	DNA polymerase small subunit	DNA ポリメラーゼスモールサブユニット
1759	1716248	1721644	373130	367734	649	f-2	1716272	1719128	1536	-	L	Novel archaeal DNA polymerase	Novel 古細菌 DNA ポリメラー

1767	1730270	1731955	359108	357423	652	f-2	1730270	1731941	651	Iap	R	Predicted aminopeptidases	推定アミノペプ チダーゼ
1768	1731945	1732280	357433	357098	1534	r-2	1731963	1732158	40	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュ レーター
1769	1732332	1732982	357046	356396	1533	r-2	1732377	1732974	216	-	R	Predicted ICC-like phosphoesterase s	推定ICC様ホス ホエステラーゼ
1770	1732998	1733120	356380	356258	1532	r-2							
1771	1733473	1734267	355905	355111	284	f-1	1733473	1734256	398	-	R	Predicted amidohydrolase	推定アミドヒドロ ラーゼ
1772	1734255	1735046	355123	354332	1531	r-2	1734255	1735020	255	SmtA	Q	SAM-dependent methyltransferas es COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼCOG0500 SmtA
1773	1735212	1735793	354166	353585	1026	f-3	1735221	1735443	29	PstA	P	ABC-type phosphate transport system	ABC型リン酸 輸送系
1774	1736419	1736520	352959	352858	285	f-1							
1775	1736456	1736896	352922	352482	653	f-2	1736540	1736717	32	-	K	Predicted transcriptional regulator	推定転写レギュ レーター

1776	1736893	1737423	352485	351955	1174	r-1	1737130	1737328	30	CcmB	O	ABC-type transport system involved in cytochrome c biogenesis	ABC型輸送系、 シクロムc 生 合成に関与
1777	1737620	1738414	351758	350964	1881	r-3	1738181	1738397	33	FeoB	P	Ferrous ion uptake system protein FeoB (predicted GTPase)	鉄(II)イオン取 り込み 系タン パク質 FeoB (推定GTPアー ゼ)
1778	1738777	1739505	350601	349873	1173	r-1	1738843	1738912	33	ChrA	P	Chromate transport protein ChrA	クロム酸輸送タ ンパク質 ChrA
1779	1739502	1739852	349876	349526	1530	r-2	1739508	1739850	169	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1780	1739935	1740549	349443	348829	1172	r-1	1740337	1740451	32	CarA	E F	Carbamoylphosph ate synthase small subunit COG0505 CarA	カルバモイルリ ン酸シンターゼ スモールサブユ ニット COG0505 CarA
1781	1740792	1741826	348586	347552	1027	f-3	1740801	1741818	515	DPH2	J	Diphthamide synthase subunit DPH2	ジフタミド シン ターゼ サブユ ニット DPH2

1782	1741926	1743704	347452	345674	1028	f-3	1742919	1743285	38	FlaD	N	Putative archaeal flagellar protein D/E	推定 古細菌鞭 毛タンパク質 D/E
1783	1743694	1743957	345684	345421	1171	r-1	1743727	1743910	31	RpoE	K	DNA-directed RNA polymerase specialized sigma subunits	DNA指向性 RNA ポリメラー ゼ特異的 σ サ ブユニット
1784	1743938	1744243	345440	345135	1880	r-3	1744073	1744232	30	SIR2	H	NAD-dependent protein deacetylases	NAD依存性タン パク質 デアセ チラーゼ
1785	1744245	1745591	345133	343787	1529	r-2	1744263	1745559	346	RAD55	T	RecA-superfamily ATPases implicated in signal transduction	RecA-スーパ ーファミリー ATP アーゼ、シグ ナル伝達に関 連
1786	1745650	1746300	343728	343078	286	f-1	1745671	1746277	250	-	J	Predicted RNA methylase	推定RNA メチ ラーゼ
1787	1746894	1747268	342484	342110	1029	f-3	1746915	1747134	31	-	L	Superfamily I DNA and RNA helicases and helicase subunits	スーパファミリー I DNA お よび RNA ヘリ カーゼ および ヘリカーゼ サ ブユニット

1788	1747308	1748660	342070	340718	1030	f-3	1747314	1748610	504	Sun	J	tRNA and rRNA cytosine-C5-met hylases	tRNA および rRNA シトジン -C5-メチラーゼ
1789	1749755	1749931	339623	339447	1879	r-3	1749755	1749899	26	TatC	N	Sec-independent protein secretion pathway component TatC	Sec非依存性タ ンパク質 分泌 経路成分 TatC
1790	1749900	1749992	339478	339386	1031	f-3							
1791	1750416	1751543	338962	337835	1528	r-2	1750896	1751238	32	CirA	P	Outer membrane receptor proteins	外膜レセプター タンパク質
1792	1751717	1752793	337661	336585	1878	r-3	1751852	1752785	449	MscS	M	Small-conductan ce mechanosensitive channel	小コンダクタン ス機械感受性 チャネル
1793	1752795	1753493	336583	335885	1527	r-2	1752852	1753491	155	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1794	1753468	1755291	335910	334087	1170	r-1	1755019	1755211	37	Mfd	L K	Transcription-rep air coupling factor - superfamily II helicase COG1197 Mfd	転写修復共役 因子- スーパー -ファミリー II ヘリカーゼ COG1197 Mfd
1795	1755444	1756100	333934	333278	1526	r-2	1755450	1756041	210	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

1796	1756133	1756924	333245	332454	1877	r-3	1756133	1756826	127	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1797	1757029	1757460	332349	331918	1169	r-1	1757053	1757452	175	-	R	Uncharacterized proteins of PilT N-term./Vapc superfamily	未同定タンパク 質 of PilT N-term./Vapc スーパーファミ リー
1798	1757494	1758735	331884	330643	1168	r-1	1757503	1758730	716	TufB	J E	GTPases - translation elongation factors COG0050 TufB	GTPアーゼ - 翻訳 延長因子 COG0050 TufB
1799	1758870	1758998	330508	330380	1525	r-2							
1800	1760394	1760735	328984	328643	1032	f-3	1760619	1760721	27	-	L	Adenine-specific DNA methylase	アデニン-特異 的DNA メチラ ーゼ
1801	1762166	1762558	327212	326820	1876	r-3	1762181	1762556	176	RPS6 A	J	Ribosomal protein S6E (S10)	リボソーム タン パク質 S6E (S10)
1802	1762676	1762846	326702	326532	654	f-2	1762772	1762844	27	Kup	P	K+ transporter	K+ トランスポ ーター
1803	1762843	1763493	326535	325885	1167	r-1	1763275	1763446	33	Smc	D	Chromosome segregation ATPases	染色体分離 ATPアーゼ

1804	1763590	1764141	325788	325237	287	f-1	1763593	1764109	251	-	R	Predicted GTPases	推定GTPアー ゼ
1805	1764136	1764609	325242	324769	1166	r-1	1764163	1764607	251	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレー ター
1806	1764704	1765804	324674	323574	655	f-2	1764752	1765748	348	-	R	Predicted GTPase or GTP-binding protein	推定GTPアー ゼ または GTP結合 タン パク質
1807	1765840	1766682	323538	322696	288	f-1	1765849	1766680	343	UbiA	H	4-hydroxybenzoa te polyprenyltransfe rase	4-ヒドロキシ安 息香酸ポリプレ ニルトランスフ エラーゼ
1808	1766679	1767068	322699	322310	1033	f-3	1766814	1766988	29	Arp	R	Ankyrin repeat proteins	アンキリンリピ ートタンパク質
1809	1767079	1767885	322299	321493	1165	r-1	1767079	1767619	281	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1810	1767919	1768269	321459	321109	1164	r-1	1768081	1768183	32	MukB	D	Uncharacterized protein involved in chromosome partitioning	染色体分画化 に関与する未 同定タンパク質
1811	1768271	1769350	321107	320028	1875	r-3	1768280	1769300	431	-	L	Replication factor A large subunit and related	複製因子A ラ ージサブユニッ ト および 関連

													ssDNA-binding proteins	ssDNA結合 タ ンパク質
1812	1769469	1770143	319909	319235	1524	r-2	1769559	1770099	308	-	K	Predicted transcriptional regulator containing the HTH domain	HTH ドメイン を含む推定転 写レギュレータ ー	
1813	1770892	1772169	318486	317209	289	f-1	1770901	1772104	447	SfcA	C	Malic enzyme	リンゴ酸酵素	
1814	1772144	1772719	317234	316659	1874	r-3	1772201	1772711	199	FumA	C	Tartrate dehydratase beta subunit/Fumarate hydratase class I	酒石酸デヒドラ ターゼ β サブ ユニット/フマル 酸ヒドラターゼ クラス I	
1815	1772653	1773303	316725	316075	1163	r-1	1772680	1773301	226	TtdA	C	Tartrate dehydratase alpha subunit/Fumarate hydratase class I	酒石酸デヒドラ ターゼ α サブ ユニット/フマル 酸ヒドラターゼ クラス I	
1816	1773571	1774485	315807	314893	1162	r-1	1773571	1774483	523	SerA	E	Phosphoglycerate dehydrogenase and related dehydrogenases	ホスホグリセリ ン酸 デヒドロゲ ナーゼ および 関連デヒドロゲ	

1817	1774489	1775145	314889	314233	1161	r-1	1774504	1775140	266	-	P	Phosphate transport regulator (distant homolog of PhoU)	リン酸 輸送レギュレーター (PhoUの遠いホモログ)
1818	1775139	1776068	314239	313310	1523	r-2	1775139	1776039	357	ApbA	H	Ketopantoate reductase	ケトパントテン酸レダクターゼ
1819	1776073	1776540	313305	312838	1160	r-1							
1820	1776586	1777293	312792	312085	290	f-1	1776589	1777270	186	LasT	J	rRNA methylase	rRNA メチラーゼ
1821	1777281	1777811	312097	311567	1034	f-3	1777287	1777806	173	Ada	L	Methylated DNA-protein cysteine methyltransferase (O6 methylguanine DNA methyltransferase)	メチル化DNA-タンパク質 システイン メチルトランスフェラーゼ (O6メチルグアニンDNAメチルトランスフェラーゼ)
1822	1777799	1778830	311579	310548	656	f-2	1777799	1778813	413	NrfG	R	TPR-repeat-containing proteins	TPR-リピート含有タンパク質

1823	1779069	1779554	310309	309824	1035	f-3	1779219	1779549	131	EGD2	K	Transcription factor homologous to NACalpha-BTF3	NAC α -BTF3に 相同な転写因 子
1824	1779558	1779923	309820	309455	1522	r-2	1779657	1779912	68	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1825	1779979	1781619	309399	307759	1159	r-1	1780849	1781521	40	NtpC	C	Archaeal/vacuola r-type H ⁺ -ATPase subunit C	古細菌/液胞型 H ⁺ -ATPアーゼ サブユニット C
1826	1781597	1782928	307781	306450	657	f-2	1781600	1782872	573	HflX	R	GTPases	GTPアーゼ
1827	1782866	1783828	306512	305550	1873	r-3	1782914	1783826	312	PitA	P	Phosphate/sulphate permeases	リン酸/硫酸塩 パーミアアーゼ
1828	1784010	1784594	305368	304784	1036	f-3	1784037	1784592	213	PorG	C	Pyruvate:ferredoxin oxidoreductase in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredoxin oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ

1829	1784774	1784953	304604	304425	658	f-2	1784774	1784951	125	-	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox in oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ
1830	1784955	1786151	304423	303227	1037	f-3	1784964	1786149	643	PorA	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox in oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ
1831	1786148	1787092	303230	302286	659	f-2	1786157	1787090	559	PorB	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox in oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ

																			ゼ
1832	1787147	1787473	302231	301905	660	f-2	1787156	1787471	207	-	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox in oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ						
1833	1787485	1788669	301893	300709	291	f-1	1787485	1788664	609	PorA	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredox in oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ						
1834	1788671	1789675	300707	299703	661	f-2	1788677	1789673	537	PorB	C	Pyruvate:ferredox in oxidoreductase and related	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター						

1835	1789714	1790697	299664	298681	292	f-1	1790005	1790227	33	MhpC	R	Predicted hydrolases or acyltransferases (alpha/beta hydrolase superfamily)	推定ヒドロラーゼ または アシルトランスフェラーゼ(α/β ヒドロラーゼ スーパーファミリー)
1836	1790705	1791568	298673	297810	662	f-2	1791065	1791434	32	HemE	H	Uroporphyrinogen -III decarboxylase	ウロポルフィリノゲン-IIIデカルボキシラーゼ
1837	1791624	1791959	297754	297419	1038	f-3	1791801	1791948	29	RfaG	M	Predicted glycosyltransferases	推定グリコシルトランスフェラーゼ
1838	1791963	1792769	297415	296609	1039	f-3	1792029	1792191	32	MoaD	H	Molybdopterin converting factor	モリブドプテリン転換因子

1839	1792792	1793328	296586	296050	293	f-1	1792792	1793008	33	Qor	C	NADPH:quinone reductase and related Zn-dependent oxidoreductases COG0604 Qor	NADPH:キノン レダクターゼ および 関連Zn 依存性オキシド レダクターゼ COG0604 Qま たは
1840	1793325	1794524	296053	294854	1521	r-2	1793325	1794519	702	CsdB	E	Selenocysteine lyase	Selenoシステイ ン リアーゼ
1841	1794521	1794823	294857	294555	1872	r-3	1794566	1794758	35	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1842	1794964	1796124	294414	293254	294	f-1	1794988	1796095	285				
1843	1796129	1797154	293249	292224	1871	r-3	1796147	1797152	553	HypE	O	Hydrogenase maturation factor	ヒドロゲナーゼ 成熟 因子
1844	1797235	1797561	292143	291817	1158	r-1	1797256	1797493	70	-	R	Predicted nucleotidyltransferases	推定ヌクレオチ ジルトランスフェ ラーゼ
1845	1797561	1797665	291817	291713	1520	r-2	1797561	1797663	43	VapC	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合 タンパク質
1846	1797874	1798116	291504	291262	1157	r-1							
1847	1798158	1800545	291220	288833	1519	r-2	1798227	1800540	1259	HypF	O	Hydrogenase maturation factor	ヒドロゲナーゼ 成熟 因子

1848	1800686	1801306	288692	288072	1870	r-3	1800704	1801031	33	Eno	G	Enolase	エノラーゼ
1849	1801592	1802125	287786	287253	663	f-2	1801595	1802084	187	Ftn	P	Ferritin-like protein	フェリチン様タンパク質
1850	1802245	1803363	287133	286015	1156	r-1	1802260	1803361	605	HypD	O	Hydrogenase maturation factor	ヒドロゲナーゼ成熟因子
1851	1803363	1803602	286015	285776	1518	r-2	1803375	1803597	108	HypC	O	Hydrogenase maturation factor	ヒドロゲナーゼ成熟因子
1852	1803666	1804280	285712	285098	1040	f-3	1803675	1804212	246	MobA	H	Molybdopterine-guanine dinucleotide biosynthesis protein A	モリブドプテリン-グアニンジヌクレオチド合成タンパク質 A
1853	1804317	1804535	285061	284843	1517	r-2	1804335	1804389	25	CelB	G	Phosphotransferase system cellobiose-specific component IIC	ホスホトランスフェラーゼ系セロビオース-特異的成分 IIC
1854	1804571	1805047	284807	284331	1869	r-3	1804607	1804994	135	HyaD	C	Ni(Hydrogenase maturation factor)	Ni(ヒドロゲナーゼ成熟因子)
1855	1805521	1805853	283857	283525	1155	r-1	1805653	1805707	28	SrmB	L K J	Superfamily II DNA and RNA helicases COG0513 SrmB	スーパーファミリー II DNA および RNA ヘリカーゼ COG0513 SrmB

1856	1805911	1806657	283467	282721	1154	r-1	1805920	1806655	359	Mrp	D	ATPases involved in chromosome partitioning (Hydrogenase maturation factor)	染色体分画化 に關与するATP アーゼ(ヒドロゲ ナーゼ成熟因 子)
1857	1806654	1807073	282724	282305	1516	r-2	1806654	1807068	204	HybF	R	Zn finger protein HypA/HybF (possibly regulating hydrogenase expression) (Hydrogenase maturation factor)	Zn フィンガー ンパク質 HypA/HybF (お そらくヒドロゲ ナーゼ 発現を 調節する)(ヒド ロゲナーゼ成 熟因子)
1858	1807161	1808084	282217	281294	1041	f-3	1807203	1808076	384	CzcD	P	Co/Zn/Cd efflux system component	Co/Zn/Cd エフ ラックス系成分
1859	1808249	1808404	281129	280974	664	f-2	1808249	1808387	80	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1860	1808394	1808819	280984	280559	1515	r-2	1808403	1808814	190	-	C	Ferredoxin 3	フェレドキシン3
1861	1808985	1811618	280393	277760	1042	f-3	1810719	1811187	32	ArtI	E	ABC-type amino acid transport	ABC型アミノ酸 輸送系

1862	1811744	1812487	277634	276891	665	f-2	1811753	1812473	339	-	R	Predicted permeases	推定パーミアーズ
1863	1812518	1813510	276860	275868	1868	r-3	1812518	1813508	476	TehA	P	Tellurite resistance protein and related permeases	亜テール酸 耐性タンパク質および関連パーミアーズ
1864	1813353	1813550	276025	275828	1043	f-3	1813368	1813533	29	ZntA	P	Cation transport ATPases	カチオン輸送 ATPアーズ
1865	1813638	1814054	275740	275324	1514	r-2	1813665	1814004	163	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1866	1814141	1814644	275237	274734	1867	r-3	1814216	1814633	227	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1867	1814559	1814648	274819	274730	1044	f-3							
1868	1814829	1815962	274549	273416	1045	f-3	1814829	1815960	486	FecB	P	ABC-type Fe3+-siderophores transport systems	ABC型Fe3+-シデロフォア輸送系
1869	1815959	1817002	273419	272376	666	f-2	1815974	1816997	415	BtuC	P H	ABC-type cobalamin/Fe3+-siderophores transport	ABC型コバラミン/Fe3+-シデロフォア輸送系

1870	1816999	1817745	272379	271633	295	f-1	1817017	1817737	273	FepC	P	ABC-type cobalamin/Fe3+- siderophores transport systems	ABC型コバミ ン/Fe3+-シデロ フォア 輸送系
1871	1817756	1818715	271622	270663	667	f-2	1817828	1818653	497	Mrp	D	ATPases involved in chromosome partitioning	染色体分画化 に關与するATP アーゼ
1872	1819570	1819776	269808	269602	1153	r-1	1819570	1819675	30	-	S	Uncharacterized BCR	未同定BCR
1873	1820187	1820936	269191	268442	1513	r-2	1820226	1820424	35	XerC	L	Integrase	インテグラーゼ
1874	1820961	1821659	268417	267719	1512	r-2	1821201	1821552	171	TFA1	K	Transcription initiation factor IIE	転写開始因子 IIE
1875	1821659	1821841	267719	267537	1866	r-3	1821659	1821827	32	DnaG	L	DNA primase (bacterial type)	DNA プライマ ーゼ (細菌型)
1876	1822105	1823073	267273	266305	296	f-1	1822105	1823071	471	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸 送系
1877	1823702	1823782	265676	265596	1865	r-3							

1878	1823857	1824675	265521	264703	297	f-1	1823857	1824673	314	-	R	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸送系
1879	1824662	1825624	264716	263754	1864	r-3	1824740	1825610	353	RbsK	G	Sugar kinases	糖 キナーゼ
1880	1825648	1826151	263730	263227	298	f-1	1825648	1826035	153	-	E	Predicted regulator of amino acid metabolism (contains the ACT domain)	アミノ酸代謝の推定レギュレーター-(ACT ドメインを含む)
1881	1826226	1826504	263152	262874	1511	r-2	1826229	1826502	167	AcyP	C	Acylphosphatases	アシルホスファターゼ
1882	1826572	1826886	262806	262492	299	f-1	1826581	1826866	147	CutA	P	Uncharacterized protein involved in tolerance to divalent cations	二価カチオンに対する耐性に関与する未同定タンパク質
1883	1826859	1827470	262519	261908	1046	f-3	1826883	1827468	267	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1884	1827563	1828408	261815	260970	1863	r-3	1827782	1828406	229	UspA	T	Universal stress protein UspA and related nucleotide-binding proteins	ユニバーサル ストレスタンパク質 UspA および 関連ヌクレオチド結合タンパク質

1885	1828493	1829698	260885	259680	668	f-2	1828493	1829693	715	GcvT	E	Glycine cleavage system T protein (aminomethyltran sferase)	グリシン切断系 Tタンパク質 (アミノメチルトラ ンスフェラーゼ)
1886	1829731	1830558	259647	258820	300	f-1	1829740	1830544	264	RhaT	G	Permeases of the drug/metabolite transporter (DMT) superfamily COG0697 RhaT	薬剤のパーミア ーゼ/代謝産物 トランスポータ ー (DMT) スー パーファミリー COG0697 RhaT
1887	1830621	1831115	258757	258263	1510	r-2	1830621	1831113	183	LepB	N	Signal peptidase I	シグナルペプチ ダーゼ I
1888	1831076	1831645	258302	257733	1862	r-3	1831085	1831622	216	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1889	1831699	1832772	257679	256606	301	f-1	1831702	1832746	182	NrFG	R	TPR-repeat-cont aining proteins	TPR-リピート含 有タンパク質
1890	1832777	1833709	256601	255669	669	f-2	1832777	1833704	455	-	E	Zn-dependent dipeptidase	Zn依存性dipep チダーゼ
1891	1833706	1834158	255672	255220	1152	r-1	1833727	1834135	32	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュ レーター
1892	1834155	1834856	255223	254522	1509	r-2	1834173	1834839	282	RAD55	T	RecA-superfamily ATPases	RecA-スーパー ファミリー ATP

1905	1848117	1849664	241261	239714	1506	r-2	1849086	1849260	38	NosY	R	ABC-type transport system involved in multi-copper enzyme maturation	多重銅酵素 成熟に関与する ABC型輸送系
1906	1853437	1853742	235941	235636	1146	r-1	1853590	1853701	36	Lon	O	ATP-dependent Lon protease	ATP依存性Lon プロテアーゼ
1907	1853826	1853894	235552	235484	1048	f-3							
1908	1853933	1854607	235445	234771	1861	r-3	1853933	1854602	294	-	P	Phosphate transport regulator (distant homolog of PhoU)	リン酸 輸送レギュレーター (PhoUの遠いホモログ)
1909	1854612	1855832	234766	233546	1505	r-2	1854621	1855830	596	PitA	P	Phosphate/sulphate permeases	リン酸/硫酸塩 パーミアアーゼ
1910	1855928	1857586	233450	231792	1860	r-3	1856972	1857395	47	Icc	R	Predicted phosphohydrolase	推定ホスホヒドローラーゼ
1911	1857656	1858012	231722	231366	672	f-2	1857656	1857998	178	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1912	1858017	1859300	231361	230078	1504	r-2	1858017	1859286	652	MiaB	J	2-methylthioadenine synthetase	2-メチルチオアデニン シンセターゼ

1913	1859380	1859607	229998	229771	1145	r-1	1859389	1859596	64	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1914	1859695	1860141	229683	229237	1144	r-1	1859701	1860133	179	HyaD	C	Ni(Hydrogenase maturation factor)	Ni(ヒドロゲナー ゼ成熟因子)
1915	1860556	1860741	228822	228637	1143	r-1							
1916	1860814	1862100	228564	227278	1142	r-1	1860814	1862098	674	-	C	Coenzyme F420-reducing hydrogenase (hydrogenase subunit)	補酵素 F420- 還元ヒドロゲナ ーゼ(ヒドロゲ ナーゼサブユニ ット)
1917	1862097	1862900	227281	226478	1503	r-2	1862118	1862898	438	-	C	Coenzyme F420-reducing hydrogenase (hydrogenase subunit)	補酵素 F420- 還元ヒドロゲナ ーゼ(ヒドロゲ ナーゼサブユニ ット)
1918	1862902	1863786	226476	225592	1141	r-1	1862908	1863784	571	UbiB	H C	2-polyprenylphen ol hydroxylase and related flavodoxin oxidoreductases [~] COG0543 UbiB (hydrogenase	2-ポリプレニル フェノール ヒド ロキシラーゼ および 関連フ ラボドキシン オ キシドレダクタ ーゼ COG0543

1929	1873176	1873442	216202	215936	1053	f-3	1873251	1873440	35	-	P	Predicted subunit of the Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーターの推 定サブユニット
1930	1873439	1873735	215939	215643	675	f-2	1873439	1873733	66	MnhB	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーター
1931	1873732	1874181	215646	215197	307	f-1	1873741	1874176	199	MnhB	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーター
1932	1874169	1874537	215209	214841	1054	f-3	1874178	1874535	167	MnhC	P	Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	多重サブユニット ト Na ⁺ /H ⁺ アン チポーター
1933	1874534	1876078	214844	213300	676	f-2	1874546	1876073	720	HyfB	C P	Formate hydrogenlyase subunit 3/Multisubunit Na ⁺ /H ⁺ antiporter	蟻酸塩 水素リ アーゼ サブユ ニット 3/多重 サブユニット Na ⁺ /H ⁺ アンチ ポーター
1934	1876071	1876427	213307	212951	1055	f-3	1876080	1876188	30	WcaJ	M	Sugar transferases involved in	リポポリサッカ リド合成に関与 する糖 トランス

1935	1876465	1876995	212913	212383	308	f-1	1876465	1876993	309	-	C	lipopolysaccharide synthesis	フェラーゼ
1936	1876992	1877561	212386	211817	1056	f-3	1877043	1877556	248	HycE	C	Ni	Ni
1937	1877558	1878838	211820	210540	677	f-2	1877567	1878836	699	HycE	C	Ni	Ni
1938	1878843	1879835	210535	209543	1057	f-3	1878861	1879833	389	HycC	C	Formate hydrogenlyase subunit 4	ニット 4
1939	1879832	1880263	209546	209115	678	f-2	1879847	1880195	198	NuoI	C	Formate hydrogenlyase subunit 6/NADH:ubiquinone oxidoreductase 23 kD subunit (chain I)	ニット 4
1940	1880264	1880797	209114	208581	1859	r-3	1880270	1880729	91	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1941	1880784	1881278	208594	208100	1501	r-2	1880790	1881246	85	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1942	1881271	1881759	208107	207619	1140	r-1	1881289	1881745	103	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

1943	1881790	1882272	207588	207106	1139	r-1	1881790	1882261	149	-	S	Uncharacterized protein sharing a conserved domain with thiamine biosynthesis protein ThiI	チアミン生成タンパク質 ThiI と保存ドメインを共有する未同定タンパク質
1944	1882334	1883542	207044	205836	679	f-2	1882352	1883525	602	HolB	L	ATPase involved in DNA replication	DNA 複製に関与するATPアーゼ
1945	1883543	1884076	205835	205302	680	f-2	1883549	1884074	176	-	R	Predicted membrane-bound metal-dependent hydrolases	推定膜結合金属依存性ヒドロラーゼ
1946	1884157	1885149	205221	204229	309	f-1	1884157	1885144	503	TrxB	O	Thioredoxin reductase	チオレドキシンレダクターゼ
1947	1885281	1886627	204097	202751	1058	f-3	1885290	1886607	544	ArgD	E	PLP-dependent aminotransferases	PLP依存性アミノトランスフェラーゼ
1948	1886671	1887270	202707	202108	310	f-1	1886914	1886980	30	NarK	P	Nitrate/nitrite transporter	硝酸/亜硝酸トランスポーター
1949	1887267	1887560	202111	201818	1500	r-2	1887291	1887549	33	-	R	Predicted RNA-binding proteins	推定RNA結合タンパク質

1950	1887544	1888218	201834	201160	1138	r-1	1887553	1888216	254	DeoC	F	Deoxyribose-phosphate aldolase	デオキシリボースリン酸アルドラーゼ
1951	1888724	1890025	200654	199353	681	f-2	1888727	1890020	724	Eno	G	Enolase	エノラーゼ
1952	1890006	1890557	199372	198821	1499	r-2	1890105	1890522	58	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュレーター
1953	1890634	1894026	198744	195352	311	f-1	1891621	1893961	221	-	R	Predicted drug exporters of the RND superfamily	RND スーパーファミリーの推定薬物エキスポーター
1954	1894318	1894365	195060	195013	312	f-1							
1955	1894442	1895158	194936	194220	682	f-2	1894442	1895156	386	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1956	1895222	1895692	194156	193686	1858	r-3	1895252	1895690	245	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター
1957	1895730	1896284	193648	193094	1498	r-2	1895730	1896279	270	-	F	Xanthosine triphosphate pyrophosphatase	キサントシン三リン酸ピロホスファターゼ
1958	1896330	1896818	193048	192560	1497	r-2	1896330	1896813	298	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1959	1896886	1897806	192492	191572	313	f-1	1896895	1897795	332	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター

1960	1897803	1898744	191575	190634	1496	r-2	1897803	1898718	293	-	R	Predicted Fe-S oxidoreductases	推定Fe-S オキシドレダクターゼ
1961	1898830	1899255	190548	190123	1137	r-1	1898833	1899241	162	MoaE	H	Molybdopterin converting factor	モリブドプテリン転換因子
1962	1899309	1900178	190069	189200	1059	f-3	1899738	1899900	33	Acs	I	Acyl-coenzyme A synthetases/AMP P-(fatty) acid ligases	アシル-補酵素 A シンセターゼ /AMP-(脂肪)酸リガーゼ
1963	1900171	1900881	189207	188497	1136	r-1	1900183	1900876	335	ThiF	H	Dinucleotide-utilizing enzymes involved in molybdopterin and thiamine biosynthesis family 2	モリブドプテリンおよびチアミン生合成ファミリー2に關与するジヌクレオチド利用酵素
1964	1901205	1901720	188173	187658	1495	r-2	1901214	1901718	248	CdsA	I	CDP-diglyceride synthetase	CDP-ジグリセリドシンセターゼ
1965	1901783	1902706	187595	186672	683	f-2	1901933	1902416	32	BaeS	T	Sensory transduction histidine kinases	感覚器伝達ヒスチジンキナーゼ

1966	1902746	1903273	186632	186105	684	f-2	1902941	1903163	32	-	R	Predicted methyltransferase	推定メチルトランスフェラーゼ
1967	1903277	1904434	186101	184944	685	f-2	1903283	1904432	596	Sun	J	tRNA and rRNA cytosine-C5-methylases	tRNA および rRNA シトシン-C5-メチラーゼ
1968	1904431	1905462	184947	183916	314	f-1	1904446	1905403	212	-	R	Predicted integral membrane protein	推定内在性膜タンパク質
1969	1905501	1906337	183877	183041	1060	f-3	1905501	1906332	397	-	R	Predicted kinase	推定キナーゼ
1970	1906334	1907098	183044	182280	1857	r-3	1906616	1906817	32	AcrR	K	Transcriptional regulator	転写レギュレーター
1971	1907089	1908066	182289	181312	1135	r-1	1907089	1908061	538	QRI7	O	Metal-dependent proteases with possible chaperone activity	可能なシヤペロン 活性を有する金属依存性プロテアーゼ
1972	1908127	1909461	181251	179917	1134	r-1	1908145	1909459	683	-	C	Acyl-CoA synthetase (NDP forming)	アシル-CoA シンセターゼ (NDP 形成)
1973	1909517	1910014	179861	179364	686	f-2	1909526	1909982	250	-	R	Predicted nucleotidyltransferase	推定ヌクレオチジルトランスフェラーゼ

1974	1910023	1910727	179355	178651	315	f-1	1910053	1910725	372	TpiA	G	Triosephosphate isomerase	トリオースリン酸 イソメラーゼ
1975	1912010	1912546	177368	176832	687	f-2	1912019	1912544	278	BtuR	H	ATP:corrinoid adenosyltransferase	ATP:コリノイド アデノシルトランスフェラーゼ
1976	1912651	1912902	176727	176476	316	f-1	1912651	1912900	138	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR
1977	1912921	1913589	176457	175789	1133	r-1	1913035	1913575	240	AraD	G	Ribulose-5-phosphate 4-epimerase and related epimerases and aldolases	リブローズ-5-リン酸 4-エピメラーゼ および 関連エピメラーゼ および アルドラーゼs
1978	1913472	1914050	175906	175328	1494	r-2	1913595	1913922	33	RplV	J	Ribosomal protein L22	リボソーム タンパク質 L22
1979	1914387	1914812	174991	174566	1493	r-2	1914387	1914810	226	Lrp	K	Transcriptional regulators	転写レギュレーター
1980	1914882	1916204	174496	173174	1492	r-2	1914954	1916193	541	TrmA	J	SAM-dependent methyltransferases related to tRNA (uracil-5-)-methyltransferase	SAM依存性メチルトランスフェラーゼ、tRNA (ウラシル-5-)-メチルトランスフェラーゼに関連

1981	1916252	1916479	173126	172899	688	f-2	1916282	1916402	28	MarR	K	Transcriptional regulators	転写レギュレー ター
1982	1916521	1917351	172857	172027	317	f-1	1916572	1917262	240	-	D	ATPases involved in chromosome partitioning	染色体分画化 に關与するATP アーゼ
1983	1917310	1917879	172068	171499	1132	r-1	1917334	1917847	221	PyrE	F	Orotate phosphoribosyltra nsferase	オロチン酸ホス ホリボシルトラ ンスフェラーゼ
1984	1918215	1918709	171163	170669	1061	f-3	1918230	1918401	32	-	R	Predicted metal-dependent membrane protease	推定金属依存 性膜プロテアー ゼ
1985	1918693	1920390	170685	168988	1131	r-1	1918711	1920385	880	CDC9	L	ATP-dependent DNA ligase	ATP依存性 DNA リガーゼ
1986	1920429	1921331	168949	168047	1491	r-2	1920429	1921329	375	-	R	Predicted archaeal kinases of the sugar kinase superfamily	糖 キナーゼ スーパースファミ リーの推定古 細菌キナーゼ
1987	1921407	1923065	167971	166313	1490	r-2	1921407	1923051	700	NhaC	C	Na ⁺ /H ⁺ antiporter	Na ⁺ /H ⁺ アンチ ポーター
1988	1923377	1923970	166001	165408	1856	r-3	1923425	1923968	301	-	L	Uracil-DNA glycosylase	ウラシル-DNA グリコシラーゼ

1989	1923967	1924317	165411	165061	1130	r-1	1924060	1924255	31	Spo0J	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュ レーター
1990	1924478	1926250	164900	163128	689	f-2	1924478	1926233	1040	-	R	Predicted Fe-S oxidoreductases	推定Fe-S オキ シドレダクター ゼ
1991	1926252	1926566	163126	162812	1062	f-3	1926297	1926447	28	LysR	K	Transcriptional regulator	転写レギュレー ター
1992	1926707	1929025	162671	160353	690	f-2	1926872	1929020	723	Tar	N	Methyl-accepting chemotaxis protein	メチル受容化学 走性タンパク 質
1993	1929037	1930491	160341	158887	1129	r-1	1930174	1930438	30	LysU	J	Lysyl-tRNA synthetase class II	Lysyl-tRNA シ ンセターゼ クラ ス II
1994	1930573	1930920	158805	158458	318	f-1	1930582	1930909	125	-	R	Putative effector of murein hydrolase LrgA	推定エフェクタ ー of ムレイン ヒドロラーゼ LrgA
1995	1930917	1931588	158461	157790	1063	f-3	1930917	1931586	258	LrgB	M	Putative effector of murein hydrolase	推定エフェクタ ー of ムレイン ヒドロラーゼ
1996	1931535	1932002	157843	157376	1489	r-2	1931541	1931976	224	-	S	Uncharacterized ArCR	未同定ArCR

1997	1932193	1932927	157185	156451	319	f-1	1932292	1932925	325	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
1998	1932928	1933236	156450	156142	1128	r-1	1932997	1933207	32	PheS	J	Phenylalanyl-tRNA synthetase alpha subunit	フェニルアラニル-tRNA シンセターゼ α サブユニット
1999	1933306	1933578	156072	155800	320	f-1	1933306	1933561	93	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
2000	1933671	1934051	155707	155327	1064	f-3	1933671	1934034	98	-	R	Predicted nucleic acid-binding protein	推定核酸結合タンパク質
2001	1934029	1935735	155349	153643	1127	r-1	1934029	1935685	764	-	J	Queuine tRNA-ribosyltransferases	キューイン tRNA-リボシルトランスフェラーゼ
2002	1935745	1936650	153633	152728	1126	r-1	1935754	1936648	433	-	S	Uncharacterized archaeal coiled-coil domain	未同定古細菌コイルドコイルドメイン
2003	1936888	1937835	152490	151543	1125	r-1	1936891	1937824	501	ArcC	E	Carbamate kinase	カルバミン酸キナーゼ
2004	1937965	1939305	151413	150073	1124	r-1	1938043	1939021	52	HemY	H	Protoporphyrinogen oxidase	プロトポルフィリンノゲン オキシ

2014	1953189	1954478	136189	134900	1067	f-3	1953189	1954458	345	TIdD	R	Predicted Zn-dependent proteases and their inactivated homologs	推定Zn依存性 プロテアーゼ およびその不 活性化ホモログ
2015	1954540	1955208	134838	134170	323	f-1	1954828	1955083	30	PPX1	C	Inorganic pyrophosphatase /exopolyphosphatase	無機ピロホスファターゼ/エキソポリホスファターゼ
2016	1955253	1957394	134125	131984	1068	f-3	1955337	1957014	271	AmyA	G	Glycosidases (cyclodextrin glucanotransferase)	グリコシダーゼ (シクロデキスト リンガルカノトラ ンスフェラーゼ)
2017	1957397	1958206	131981	131172	1855	r-3	1957754	1958027	31	AlsD	H	Glutamate-1-sem ialdehyde aminotransferase	グルタミン酸 -1-セミアルデ ヒドアミノトラン スフェラーゼ
2018	1958454	1958975	130924	130403	1487	r-2	1958538	1958862	29	ELP3	K	ELP3 component of the RNA polymerase II complex	RNA ポリメラー ゼII 複合体の ELP3 成分

2019	1959384	1959980	129994	129398	1486	r-2	1959423	1959549	29	GCD1	M	Nucleoside-diphosphate-sugar pyrophosphorylates involved in lipopolysaccharide biosynthesis/translation initiation factor eIF2B subunits COG1208 GCD1	リポポリリッカリド合成に関与するヌクレオシド-ジリン酸-糖ピロホスホラーゼ/翻訳開始因子eIF2Bサブユニット COG1208 GCD1
2020	1959997	1960209	129381	129169	1120	r-1	1960015	1960108	26	Smc	D	Chromosome segregation ATPases	染色体分離 ATPアーゼ
2021	1961911	1965690	127467	123688	1119	r-1	1963837	1964131	36	RluA	J	Pseudouridylate synthases	プソイドウリジル酸 シンターゼ
2022	1962226	1962360	127152	127018	324	f-1	1962229	1962334	28				
2023	1964567	1964629	124811	124749	692	f-2							
2024	1965873	1966658	123505	122720	1069	f-3	1965879	1966644	381	SgcQ	R	Predicted TIM-barrel enzyme	推定TIM-barrel酵素

2025	1966899	1969403	122479	119975	1070	f-3	1968654	1968987	35	RecB	L	ATP-dependent exoDNAse (exonuclease V) beta subunit (contains helicase and exonuclease domains)	ATP依存性エ キソDNAアーゼ (エキソヌクレア ーゼ V) β サ ブユニット (ヘリ カーゼ および エキソヌクレア ーゼ ドメインを 含む)
2026	1969396	1970652	119982	118726	325	f-1	1969603	1969909	35	AprE	O	Subtilisin-like serine proteases	スブチリシン様 セリン プロテア ーゼ
2027	1970804	1971262	118574	118116	693	f-2	1970918	1971155	40	MazG	R	Predicted pyrophosphatase	推定ピロホスフ ァターゼ
2028	1971328	1971672	118050	117706	326	f-1	1971481	1971613	37	IlvE	E H	Branched-chain amino acid aminotransferase /4-amino-4-deox ychorismate lyase COG0115 IlvE	分岐鎖 アミノ 酸アミノトランス フェラーゼ/4- アミノ-4-デオキ シコリスミ酸リア ーゼ COG0115 IlvE
2029	1971682	1972395	117696	116983	327	f-1	1971904	1972216	32	MetG	J	Methionyl-tRNA synthetase	メチオニル -tRNA シンセ

2039	1980484	1980942	108894	108436	1116	r-1	1980496	1980937	229	PyrI	F	Aspartate carbamoyltransferase regulatory subunit	アスパラギン酸カルバモイルトランスフェラーゼ レギュレーター サブユニット
2040	1980946	1981878	108432	107500	1115	r-1	1980946	1981843	487	PyrB	F	Aspartate carbamoyltransferase	アスパラギン酸カルバモイルトランスフェラーゼ
2041	1981986	1982897	107392	106481	1072	f-3	1982367	1982880	159	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
2042	1982894	1983307	106484	106071	695	f-2	1982894	1983305	193	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
2043	1983573	1984325	105805	105053	1483	r-2	1983972	1984284	35	-	R	Predicted metal-binding domain (associated with helicases in Pyrococcus and Mtub)	推定金属結合ドメイン (ピロコッカスにおけるヘリカーゼおよび Mtubと関連)
2044	1984369	1985724	105009	103654	1114	r-1	1984369	1985722	822	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

2045	1985942	1987522	103436	101856	696	f-2	1986548	1986680	33	TehA	P	Tellurite resistance protein and related permeases	亜テルル酸 耐性タンパク質および関連ファミリー
2046	1987535	1988848	101843	100530	1852	r-3	1987562	1988771	205	-	R	Uncharacterized ATPases of the AAA superfamily	AAA スーパーファミリーの未同定ATPアーゼ
2047	1988883	1989671	100495	99707	1482	r-2	1988907	1989048	30	CpsG	G	Phosphomannomutase	ホスホマンノムターゼ
2048	1989712	1990701	99666	98677	1113	r-1	1990111	1990264	30	-	R	ATPase components of various ABC-type transport systems	種々のABC型輸送系のATPアーゼ成分
2049	1991043	1992029	98335	97349	1481	r-2	1991049	1991937	223	ThrC	E	Threonine synthase	スレオニン シンターゼ
2050	1992178	1993323	97200	96055	1112	r-1	1992334	1992553	32	-	F	Deoxyguanosine/deoxyadenosine kinase	デオキシグアノシン/デオキシアデノシン キナーゼ
2051	1993320	1993928	96058	95450	1480	r-2	1993362	1993914	320	HsIV	O	Proteasome protease subunit	プロテアソーム プロテアーゼ

2059	2003696	2004217	85682	85161	697	f-2	2003705	2004215	243	SEN2	J	tRNA splicing endonuclease	tRNA スプライ シングエンドヌ クレアーゼ
2060	2004220	2004576	85158	84802	1110	r-1	2004421	2004565	31	AcrR	K	Transcriptional regulator	転写レギュレー ター
2061	2004890	2004943	84488	84435	698	f-2							
2062	2005188	2006615	84190	82763	1477	r-2	2005419	2006613	699	BioF	H	7-keto-8-aminop elargonate synthetase and related enzymes	7-ケト-8-アミノ ペラルゴン酸 シンセターゼ および 関連酵 素
2063	2006536	2009136	82842	80242	329	f-1	2006722	2008342	773	-	L	Inteins	インティン
2064	2009133	2010641	80245	78737	1074	f-3	2009142	2010378	666	HoIB	L	ATPase involved in DNA replication	DNA 複製に関 与するATPアー ゼ
2065	2010697	2012013	78681	77365	330	f-1	2010787	2011984	213	-	R	Uncharacterized ATPases of the AAA superfamily	AAA スーパー ファミリーの未 同定ATPアー ゼ
2066	2012072	2012314	77306	77064	699	f-2	2012099	2012246	34	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
2067	2012311	2012514	77067	76864	1109	r-1	2012377	2012512	66	-	R	Predicted ATPase of the	AAA スーパー ファミリーの推

2074	2019182	2019406	70196	69972	1848	r-3	2019182	2019401	108	AbrB	K	Regulators of stationary/ sporulation gene expression	定常期/孢子形成 遺伝子発現のレギュレーター
2075	2019763	2020425	69615	68953	1106	r-1	2019766	2020420	286	RecA	L	RecA/RadA recombinase	RecA/RadA リコンビナーゼ
2076	2020435	2021076	68943	68302	1105	r-1	2020441	2021074	272	-	R	Predicted Zn-dependent hydrolases of the beta-lactamase fold	β -ラクタマゼ フォールドの推定Zn依存性ヒドロラーゼ
2077	2021157	2021522	68221	67856	1076	f-3	2021199	2021334	35	-	R	Predicted GTPases	推定GTPアーゼ
2078	2021495	2022214	67883	67164	700	f-2	2021807	2022128	33	LrgB	M	Putative effector of murein hydrolase	ムレインヒドロラーゼの推定エフェクター
2079	2022269	2023111	67109	66267	701	f-2	2022269	2023103	422	PrsA	F E	Phosphoribosylpyrophosphate synthetase COG0462 PrsA (ribose phosphate pyrophosphokinase)	ホスホリボシルピロリン酸 シンセターゼ COG0462 PrsA (リボースホスフエートピロホスホキナーゼ)

													e)		
2080	2025340	2025417	64038	63961	332	f-1									
2081	2028631	2028912	60747	60466	333	f-1	2028631	2028814	32	BaeS	T	Sensory transduction histidine kinases	感覚器 伝達ヒ スチジン キナ ーゼ		
2082	2028914	2029489	60464	59889	702	f-2	2028923	2029481	274	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR		
2083	2029483	2030094	59895	59284	1104	r-1	2029573	2030032	47	SEC59	I	Dolichol kinase	ドリコールキナ ーゼ		
2084	2030142	2031023	59236	58355	1474	r-2	2030157	2030400	35	FadR	K	Transcriptional regulators	転写レギュレー ター		
2085	2031138	2032727	58240	56651	1077	f-3	2031147	2032725	770	LysS	J	Lysyl-tRNA synthetase class I	Lysyl-tRNA シ ンセターゼ クラ ス I		
2086	2032734	2033420	56644	55958	1473	r-2	2032734	2033415	334	SmtA	Q R	SAM-dependent methyltransferases COG0500 SmtA	SAM依存性メチ ルトランスフェラ ーゼCOG0500 SmtA		
2087	2033501	2034466	55877	54912	703	f-2	2033519	2034458	515	-	R	Predicted archaeal sugar kinases	推定古細菌糖 キナーゼ		

2088	2034330	2035610	55048	53768	1078	f-3	2034459	2035602	596	-	C	Predicted butyrate kinase	推定酪酸キナーゼ
2089	2035637	2036254	53741	53124	704	f-2	2035670	2036246	336	PorG	C	Pyruvate:ferredoxin in oxidoreductase and related 2-oxoacid:ferredoxin oxidoreductases	ピルビン酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼおよび 関連 2-オキソ酸:フェ レドキシンオキ シドレダクター ゼ
2090	2036331	2036594	53047	52784	1079	f-3	2036331	2036574	124	PhoU	P	Phosphate uptake regulator	リン酸 取り込 み レギュレー ター
2091	2036609	2037244	52769	52134	705	f-2	2036609	2037239	296	PhoU	P	Phosphate uptake regulator	リン酸 取り込 み レギュレー ター
2092	2037290	2038219	52088	51159	706	f-2	2037299	2038217	544	-	E	Asparaginase	アスパラギナー ゼ
2093	2038219	2039394	51159	49984	334	f-1	2038231	2039368	442				
2094	2039429	2040040	49949	49338	707	f-2	2039429	2040026	255	-	R	Biotin synthase-related enzyme	ビオチン シンタ ーゼ-関連酵素

2095	2039994	2040326	49384	49052	1080	f-3	2040009	2040312	111	-	R	Biotin synthase-related enzyme	ビオチン シンタ ーゼ-関連酵素
2096	2040316	2040816	49062	48562	1103	r-1	2040316	2040739	45	NfG	R	TPR-repeat-cont aining proteins	TPR-リピート含 有 タンパク質
2097	2040797	2041732	48581	47646	1847	r-3	2040797	2041718	498	-	T	Predicted serine/threonine protein kinases	推定セリン/ス レオニン タン パク質 キナー ゼ
2098	2043010	2044203	46368	45175	1102	r-1	2043010	2044201	669	RPT1	O	ATP-dependent 26S proteasome regulatory subunit	ATP依存性26S プロテアソーム レギュレーター サブユニット
2099	2044340	2045170	45038	44208	708	f-2	2044421	2045141	252	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
2100	2045127	2046032	44251	43346	1472	r-2	2045154	2045985	298	Rfe	M	UDP-N-acetylmu ramyl pentapeptide phosphotransfera se/UDP-N- acetylglucosamin e-1-phosphate transferase	UDP-N-アセチ ルムラミルペン タペプチド ホス ホトランスフェラ ーゼ/UDP-N- アセチルグルコ サミン-1-リン酸 トランスフェラー

2101	2046077	2047399	43301	41979	709	f-2	2046677	2047397	303	WcaA	M	Glycosyltransferases involved in cell wall biogenesis	細胞壁 生合成に関与するグリコシルトランスフェラーゼ
2102	2047406	2047780	41972	41598	710	f-2	2047478	2047751	75	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
2103	2047777	2048313	41601	41065	1101	r-1	2047783	2048305	325	ComE B	F	Deoxycytidylate deaminase	デオキシシチジル酸デアミナーゼ
2104	2048320	2049099	41058	40279	1100	r-1	2048482	2049088	175	HtpX	O	Zn-dependent protease with chaperone function	シヤペロン 機能をもつZn依存性プロテアーゼ
2105	2049106	2049471	40272	39907	1099	r-1	2049106	2049469	184	-	K	Predicted transcriptional regulator	推定転写レギュレーター
2106	2050697	2051614	38681	37764	711	f-2	2050721	2051612	493	PyrD	F	Dihydroorotate dehydrogenase	ジヒドロオロチン酸デヒドロゲ

2107	2051664	2051900	37714	37478	1081	f-3	2051664	2051838	85	AbrB	K	Regulators of stationary/sporulation gene expression	定常期/胞子形成 遺伝子発現のレギュレーター
2108	2051888	2052298	37490	37080	712	f-2	2051894	2052257	32	-	R	Uncharacterized proteins of PilT N-term./Vapc superfamily	PilT N-term./Vapc スーパーファミリーの未同定タンパク質
2109	2052295	2053014	37083	36364	335	f-1	2052295	2053012	391	-	R	Predicted ATPase (PP-loop superfamily)	推定ATPアーゼ(PP-ループ スーパーファミリー)
2110	2053125	2053190	36253	36188	1082	f-3							
2111	2055992	2057146	33386	32232	1846	r-3	2055992	2057141	554				
2112	2057204	2057467	32174	31911	1845	r-3	2057216	2057441	53	-	S	Predicted membrane protein	推定膜タンパク質
2113	2057477	2058655	31901	30723	1844	r-3	2057486	2058653	561	AvtA	E	PLP-dependent aminotransferases	PLP依存性アミノトランスフェラーゼ
2114	2058742	2059149	30636	30229	1098	r-1	2058769	2059132	89	-	S	Uncharacterized	未同定ACR

2115	2059310	2059501	30068	29877	713	f-2	2059310	2059427	59	-	K	ACR	CopG/Arc/Met J DNA結合 ドメ インを含む推定 転写レギュレー ター
2116	2059560	2060801	29818	28577	1083	f-3	2059560	2060775	454	FtsZ	D	Predicted transcriptional regulators containing the CopG/Arc/MetJ DNA-binding domain	細胞分裂 GTP アーゼ
2117	2060819	2061598	28559	27780	714	f-2	2060828	2061596	420	Soj	D	ATPases involved in chromosome partitioning	染色体分画化 に關与するATP アーゼ
2118	2061501	2061911	27877	27467	1084	f-3	2061690	2061861	32	-	R	WD40 repeat protein	WD40 リポート タンパク質
2119	2061997	2062446	27381	26932	1097	r-1	2062012	2062444	222	TagD	M	Cytidylyltransfera se COG0615 TagD	シチジルリトラ ンスフェラーゼ COG0615 TagD
2120	2062448	2062966	26930	26412	1843	r-3	2062448	2062964	292	-	J	PUA domain (predicted RNA-binding domain)	PUA ドメイン (推定RNA結合 ドメイン)

2121	2062966	2063607	26412	25771	1096	r-1	2062981	2063593	312	PyrF	F	Orotidine-5'-phosphate decarboxylase	オロチジン-5'-リン酸デカルボキシラーゼ
2122	2063612	2064214	25766	25164	1842	r-3	2063678	2063858	35	DeoR	K	Transcriptional regulator	転写レギュレーター
2123	2064280	2065428	25098	23950	1095	r-1	2064280	2065423	586	INO1	I	Myo-inositol-1-phosphate synthase	ミオイノシトール-1-リン酸シンターゼ
2124	2065471	2066778	23907	22600	1094	r-1	2065492	2066215	311	-	M	Predicted sugar nucleotidyltransferases	推定糖ヌクレオチジルトランスフェラーゼ
2125	2066863	2067558	22515	21820	336	f-1	2066878	2067541	320	-	R	Predicted ATPases of PP-loop superfamily	推定ATPアーゼ of PP-ループスーパーファミリー
2126	2067623	2068384	21755	20994	715	f-2	2067623	2068379	355	CcmA	Q	ABC-type multidrug transport system	ABC型多剤輸送系
2127	2068384	2069838	20994	19540	337	f-1	2068387	2069740	140	-	R	Predicted permease	推定パーミアーズ
2128	2069828	2070184	19550	19194	1841	r-3	2069828	2070182	176	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR

2129	2070189	2070728	19189	18650	1471	r-2	2070216	2070720	238	-	F	ADP-ribose pyrophosphatase	ADP-リボース ピロホスファタ ーゼ
2130	2070778	2071599	18600	17779	1093	r-1	2070778	2071522	124	RbsK	G	Sugar kinases	糖 キナーゼ
2131	2071722	2072069	17656	17309	1085	f-3	2071722	2071995	130	GAR1	J	RNA-binding protein involved in rRNA processing	rRNAプロセシン グに関する RNA結合 タン パク質
2132	2072066	2072986	17312	16392	716	f-2	2072075	2072978	343	SUA7	K	Transcription initiation factor IIB	転写開始因子 IIB
2133	2073002	2073490	16376	15888	717	f-2	2073002	2073488	145	-	R	Predicted phosphoesterase	推定ホスホエス テラーゼ
2134	2073534	2073737	15844	15641	1470	r-2	2073534	2073735	114	HHT1	L	Histones H3 and H4 (Histon A&B)	ヒストンH3 およ び H4(ヒストン AおよびB)
2135	2074012	2075424	15366	13954	338	f-1	2074111	2075422	649	RbcL	G	Ribulose 1	リブロース1
2136	2075557	2076162	13821	13216	339	f-1	2075569	2076085	224	-	K	Predicted transcriptional regulators	推定転写レギュ レーター
2137	2076199	2076411	13179	12967	1092	r-1	2076208	2076409	113	RPS17 A	J	Ribosomal protein S17E	リボソーム タン パク質 S17E
2138	2076528	2076959	12850	12419	1086	f-3	2076528	2076909	182	-	S	Uncharacterized	未同定ArCR

2139	2076986	2077663	12392	11715	718	f-2	2076995	2077661	351	-	S	ArCR	未同定ACR
2140	2077703	2078152	11675	11226	719	f-2	2077772	2077931	31	CcmC	O	ABC-type transport system involved in cytochrome c biogenesis	シクロムc 生合成に関するABC型輸送系
2141	2078164	2078964	11214	10414	1091	r-1	2078167	2078932	275	SpIB	L	DNA repair photolyase	DNA修復 ホトリアーゼ
2142	2079001	2080026	10377	9352	1090	r-1	2079019	2080021	335	NrfG	R	TPR-repeat-containing proteins	TPR-リピート含有タンパク質
2143	2080319	2082169	9059	7209	720	f-2	2080319	2082164	1008	NrdD	F	Oxygen-sensitive ribonucleoside-triphosphate reductase	酸素感受性 リボヌクレオシド-三リン酸レダクターゼ
2144	2082376	2082897	7002	6481	340	f-1	2082376	2082874	194	PflA	O	Pyruvate-formate lyase-activating enzyme	ピルビン酸-蟻酸塩 リアーゼ活性化 酵素
2145	2082919	2083284	6459	6094	1089	r-1	2082925	2083282	171	-	S	Uncharacterized ACR	未同定ACR
2146	2083288	2084007	6090	5371	1088	r-1	2083288	2083987	359	Cof	R	Predicted hydrolases of the	HAD スーパーファミリーの推

表2において、読み枠に記載されている、 $f-1 \sim f-3$ は、センス鎖でのオープンリーディングフレームを示し、 $r-1 \sim r-3$ は、アンチセンス鎖でのオープンリーディングフレームを示す。分類において、Jは、翻訳、リボソーム構造、生物発生に関連するポリペプチドを示し；Kは、転写に関連するポリペプチドを示し；Lは、DNA複製、組換え、修復に関連するポリペプチドを示し；Dは細胞分裂、染色体分画化に関連するポリペプチドを示し；Oは、翻訳後修飾、タンパク質代謝回転、シャペロンに関連するポリペプチドを示し；Mは細胞エンベロープ生物発生、外膜に関連するポリペプチドを示し；Nは細胞運動性、分泌に関連するポリペプチドを示し；Pは無機イオン輸送、代謝に関連するポリペプチドを示し；Tはシグナル伝達機構に関連するポリペプチドを示し；Cはエネルギー産生、変換に関連するポリペプチドを示し；Gは、炭水化物輸送、代謝に関連するポリペプチドを示し；Eはアミノ酸輸送、代謝に関連するポリペプチドを示し；Fはヌクレオチド輸送、代謝に関連するポリペプチドを示し；Hは補酵素代謝に関連するポリペプチドを示し；Iは脂質代謝に関連するポリペプチドを示し；Qは二次代謝産物生合成、輸送、異化に関連するポリペプチドを示し；Rは一般的な機能予測のみのポリペプチドを示し；そして、Sは機能未知のポリペプチドを示す。分類は暫定的であり、2以上の分類が当てはまることもあることからその場合は両方の文字が記載されている。

(生体分子チップ)

別の局面において、本発明は、生体分子チップを提供する。この生体分子チップは、支持体と、配列番号1または1087に示される配列の少なくとも8の連続または不連続のヌクレオチド配列を有する核酸分子またはその改変体のうち少なくとも1つとを含み、これは、支持体に配置されていることを特徴とする。

従って、1つの実施形態において、本発明は、a) 配列番号1または1087に示す塩基配列もしくはその相補体またはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；(b) 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド；(c) 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；(d) (a)～(c)のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または(e) (a)～(c)のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む、核酸分子を提供する。

1つの好ましい実施形態において、上記(c)における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、表2に示される生物学的活性を有するかまたは実質的に同一の活性を有する、あるいはその異常型の活性（例えば、正常な生物学的活性の阻害活性））限り、多い数であってもよい。

別の好ましい実施形態において、上記ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、2～341、343～722、724～1086、1088

～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、表2に示される生物学的活性などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、標識アッセイなどによって測定することができる。

別の好ましい実施形態において、(d)に記載の対立遺伝子変異体は、配列番号1または1087に示す核酸配列またはその一部（例えば、表2の読み枠がf-1、f-2またはf-3の場合、表2に示される配列番号1の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列、あるいは表2の読み枠がr-1、r-2またはr-3の場合、配列番号1087の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列）と少なくとも99%の相同性を有することが有利である。

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の遺伝子配列をクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の遺伝子配列の全部または一部（例えば、表2の読み枠がf-1、f-2またはf-3の場合、表2に示される配列番号1の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列、あるいは表2の読み枠がr-1、r-2またはr-3の場合、配列番号1087の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列、あるいは、それらのフラグメント）をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号1または1087に示す核酸配列あるいはその一部（例えば、表2の読み枠がf-1、f-2またはf-3

の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列、あるいは表 2 の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号 1087 の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列）

- 5 と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。好ましくは、種相同体は、上記基準配列と、少なくとも約 40%、少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、相同であり得る。

- 好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。最も好ましくは、本発明の遺伝子配列は、配列番号 1 または 1087 に記載される配列またはその一部（例えば、表 2 の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ または $f-3$ の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列、あるいは表 2 の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号 1087 の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列）と 100% 同一の配列を有する。

- 20 好ましい実施形態において、本発明の遺伝子をコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長、さらにより好ましくは少なくとも 30 の連続するまたは不連続の

ヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号1に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約8のヌクレオチド長であり得、好ましくは約10ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約15ヌクレオチド長であり得、好ましくは約17ヌクレオチド長、より好ましくは約30ヌクレオチド長であり得る。

1つの実施形態において、本発明の遺伝子をコードする核酸分子は、配列番号1の核酸配列のオープンリーディングフレームの全範囲を含む。より好ましくは、本発明の核酸分子は、表2の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ または $f-3$ の場合、表2に示される配列番号1の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列、あるいは表2の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号1087の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列のいずれか1つからなる。

したがって、本発明の生体分子チップには、核酸分子またはその改変体は、配列番号1または1087に示される配列を網羅するように配置されることが好ましい。網羅的に配置することによって、ゲノムの働きを網羅的に解析することができるからである。これは、本発明によって、ゲノムの配列全体が解読されたことによって初めて達成されたものであり、従来では達成できなかった格別の効果を示す。

別の実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子また

はその改変体は、配列番号1または1087に示される配列の任意のオープンリーディングフレームを含む。このように、ゲノム上の任意のオープンリーディングフレームを選択することができるという効果は、従来では実施し得なかった格別の効果であるといえる。特に、90℃のような超高熱において生活する生物のゲノム全体の解析を行うことは従来不可能であったことに留意すべきである。

別の実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子またはその改変体は、配列番号1または1087に示される配列の実質的にすべてのオープンリーディングフレームを含むことが好ましい。ここで、実質的にすべての用語は、ゲノムの全体的に必要な数に十分な数をいう。したがって、実質的にすべての用語は、必ずしもすべてである必要はなく、目的に応じて、当業者は適宜その数を選択することができる。例示的な「実質的にすべての数」とは、例えば、全オープンリーディングフレームの少なくとも約30%、好ましくは少なくとも約50%、より好ましくは少なくとも約80%、さらに好ましくは少なくとも約90%、さらにより好ましくは少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%などが挙げられるがそれらに限定されない。別の代表的な例としては、本明細書において機能がすでに同定された約900の遺伝子が実質的にすべての数であり得る。このような実質的にすべてのオープンリーディングフレームが解析され得るという効果は、従来達成することができなかったものである。

したがって、別の好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つの配列をコードする配列を含む。

別の好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される前記

核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる配列をコードする配列を実質的にすべて含むことが好ましい。すべての配列を含むことにより、ゲノムモデルを再現できるからである。

- 5 別のより好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 8 の連続したヌクレオチド長を有する配列を含む。ここで、配列の選択は、上述
- 10 のように種々のファクターを考慮して決定することができる。少なくとも 8 の連続したヌクレオチド長は、超好熱始原菌に特有の配列を有し得ることから、そのような解析を行うのに都合がよい。

- 別のより好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～341、343～722、724
- 15 ～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 15 の連続したヌクレオチド長を有する配列を含む。少なくとも 15 の連続したヌクレオチド長は、超好熱始原菌に特有の配列を実質的に特異的に同定することができることから、そのような解析を行うのに都合がよい。

- 20 別のより好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子またはその改変体は、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 30 の連続したまたは不連続のヌクレオチド長を有する配列を含む。少なくとも
- 25 30 の連続したまたは不連続のヌクレオチド長は、プローブとして用いた際でも十分に超好熱始原菌に特有の配列を実質的に特異的に同定することができる

ことから、そのような解析を行うのに都合がよい。

別のより好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子またはその改変体は、配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～ 7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列、またはその 1 もしくは数個の置換、付加および／もしくは欠失を含む配列を含む。このような配列は、超好熱始原菌に含まれるかまたは含まれると予想されるポリペプチドをコードする核酸分子を網羅的に解析できることから、そのような解析を行うのに都合がよい。

- 10 別のより好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子またはその改変体は、配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～ 7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 8 の連続したヌクレオチド長を有する配列、またはその 1 もしくは数個の置換、
15 付加および／もしくは欠失を含む配列を含む。このような配列を配置したチップは、すべての遺伝子の挙動を調査するのに利用され得る。

- 別のより好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップに配置される核酸分子またはその改変体は、表 2 の読み枠が $f - 1$ 、 $f - 2$ または $f - 3$ の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列を有するか、あるいは表 2 の読み枠が $r - 1$ 、 $r - 2$ または $r - 3$ の場合、配列番号 1 0 8 7 の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列を有する。このような配列は、実際に超好熱始原
20 菌が有するオープンリーディングフレームが配置されていることから、ゲノムレベルのアッセイをより正確に行うことができる。したがって、このようなゲ
25

ノムレベルの全体の解析に使用するためにこの実施形態は用いられ得る。

別の実施形態において、本発明の生体分子チップに含まれる支持体は、アドレス可能である。アドレスを付すことによって、すべての核酸分子の解析が容易になる。そのようなアドレスの付し方は、当該分野において周知である。

- 5 別の局面において、本発明は、配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～1 8 3 7、および 1 8 3 9～2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体が少なくとも 1 つ支持体に配置された、生体分子チップを提供する。
- 10 従って、1 つの実施形態において、本発明は、(a) 配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～1 8 3 7、および 1 8 3 9～2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；(b) 配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～
- 15 1 8 3 7、および 1 8 3 9～2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；(c) 表 2 の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ または $f-3$ の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号
- 20 （センス鎖、終結）の位置までの配列、あるいは表 2 の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号 1 0 8 7 の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；(d) 配列番号 2～3 4 1、3 4 3～7 2 2、7 2 4～1 0 8 6、1
- 25 0 8 8～1 4 6 8、1 4 7 0～1 8 3 7、および 1 8 3 9～2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列の種相同体である、ポリペ

チド；または（e）（a）～（d）のいずれか1つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも70％であるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、を含む、ポリペプチドを提供する。

1つの好ましい実施形態において、上記（b）における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列からなる正常型遺伝子と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する、あるいは配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列を有する遺伝子のの異常型活性）限り、多い数であってもよい。

別の好ましい実施形態において、上記（c）におけるスプライス変異体または対立遺伝子変異体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列と少なくとも99％の相同性を有することが好ましい。

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列と少なくとも約30％の相同性を有することが好ましい。好ましくは、種相同体は、上記基準配列と、少なくとも約40％、少なくとも約50％、少なくとも約60％、少なくとも

約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、
少なくとも約 98%、相同であり得る。

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の配列番号 2～341、343～722、724
5 ～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列をクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる群より選択される少
10 なくとも 1 つのアミノ酸配列の全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号 1 または 1087 に示す核酸配列もしくはその一部（例えば、表 2 の読み
15 枠が f-1、f-2 または f-3 の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列、あるいは表 2 の読み枠が r-1、r-2 または r-3 の場合、配列番号 1087 の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列）または配列番号 2～341、343～722、
20 724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。好ましくは、種相同体は、上記基準配列と、少なくとも約 40%、少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 98%、相同であり得る。
25

別の好ましい実施形態において、上記（e）における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、表2に記載される生物学的機能などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、酵素アッセイ、免疫学的アッセイ、蛍光アッセイなどによって測定することができる。

好ましい実施形態において、上記（a）～（d）のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好ましくは少なくとも約99%であり得る。最も好ましくは、本発明の遺伝子産物は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列からなる配列を有する。

本発明のポリペプチドは、通常、少なくとも3の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも4アミノ酸長、より好ましくは少なくとも5アミノ酸長、少なくとも6アミノ酸長、少なくとも7アミノ酸長、少なくとも8アミノ酸長、少なくとも9アミノ酸長、少なくとも10アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも15アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも20アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明のポリペプチドは、ある因子と相互作用することがで

きる限り、その上限の長さは、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列の全長と同一であってもよく、それを超える長さであってもよい。ここで、含まれる配列に関するより好ましい形態および構成としては、上記形態および構成において記載される任意の形態を利用することができる。

10 本発明のポリペプチド形態の遺伝子産物は、標識されているかまたは標識され得ることが好ましい。このような標識されているかまたは標識され得る遺伝子産物を用いて、その遺伝子産物に対する抗体量を測定することができ、それにより、その遺伝子産物の発現量を間接的に測定することができるからである。

15 別の好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップにおいて支持体に配置されるポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列の少なくとも 3 つの連続するアミノ酸配列を含む。少なくとも 3 つの連続するアミノ酸配列を有することによって、特異的なエピトープを構成することが可能となるからである。ここで、含まれる配列に関するより好ましい形態としては、上記形態において記載される任意の形態を利用することができる。

20 別の好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップにおいて支持体に配置されるポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列の少なくとも 8 つの連続するアミノ酸配列を含む。少なくとも 8 つの連続するアミノ酸配列を有することによって、より効率よく特異的なエピトープを構成することが可能となるか

25

らである。ここで、含まれる配列に関するより好ましい形態および構成としては、上記形態において記載される任意の形態および構成を利用することができる。

別の好ましい実施形態において、本発明の生体分子チップにおいて支持体に
5 配置されるポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2～341、343～
722、724～1086、1088～1468、1470～1837、およ
び1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配
列またはその配列と少なくとも70%相同である配列の少なくとも3つの連続
するまたは不連続のアミノ酸配列を含み、かつ、生物学的活性を有する。こ
10 で、この生物学的活性は、表2における日本語または英語による説明に示され
る機能を含むことが好ましい。別の実施形態では、この生物学的活性は、エピ
トープ活性を含む。ここで、含まれる配列に関するより好ましい形態および構
成は、上記形態において記載される任意の形態および構成を利用することがで
きる。

別の局面において、本発明は、配列番号1または1087に示される配列の
15 少なくとも8の連続または不連続のヌクレオチド配列を有する核酸分子または
その改変体の核酸配列の情報が格納された、記録媒体を提供する。ここで核酸
配列の情報としては、核酸配列自体の情報のほか、通常の前記表に記載される
ような情報もまた含まれる。そのような情報としては、例えば、コード領域、
20 インترون領域、特異的発現、プロモーター配列および活性、生物学的機能、
類似配列、ホモログ、論文情報、などが挙げられるがそれらに限定されない。

好ましい実施形態では、本発明の記録媒体に格納される情報に係る核酸分子
またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～108
6、1088～1468、1470～1837、および1839～2157か
25 らなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも8の連続し
たヌクレオチド長を有する配列、またはその1もしくは数個の置換、付加およ

び／もしくは欠失を含む配列を含む。このような情報を提供することは、従来の技術では不可能であったことから、本発明において初めて達成された効果であるといえる。

別の実施形態では、本発明の記録媒体に格納される情報に係る核酸分子またはその改変体は、表 2 の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ または $f-3$ の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列を有するか、あるいは表 2 の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号 1087 の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列を有する。これだけの、情報が記録された記録媒体は、従来にはなく、本発明の記録媒体は、ゲノム全体の解析利用できるという効果を有する。好ましくは、本発明の記録媒体は、実質的にすべてのオープンリーディングフレーム配列の情報を含む。ここで、含まれる配列に関するより好ましい形態および構成は、上記の形態において記載される任意の形態および構成を利用することができる。

別の局面において、本発明は、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体のアミノ配列の情報が格納された、記録媒体を提供する。ここで、含まれる配列および構成に関するより好ましい形態は、上記の形態において記載される任意の形態および構成を利用することができる。

別の実施形態では、本発明の記録媒体に格納される情報に係るポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および 1839～2157 か

らなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列の少なくとも3つの連続するアミノ酸配列を含む。ここで、含まれる配列および構成に関するより好ましい形態は、上記の形態において記載される任意の形態および構成を利用することができる。

- 5 別の実施形態では、本発明の記録媒体に格納される情報に係るポリペプチドまたはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列の少なくとも8つの連続するアミノ酸配列を含む。
- 10 ここで、含まれる配列および構成に関するより好ましい形態は、上記の形態において記載される任意の形態および構成を利用することができる。

- 別の実施形態では、本発明の記録媒体に格納される情報に係るポリペプチドまたはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列の少なくとも3つの連続するまたは不連続のアミノ酸配列を含み、かつ、生物学的活性を有する。ここで、含まれる配列および構成に関するより好ましい形態は、上記の形態において記載される任意の形態および構成を利用することができる。
- 15

- 20 別の実施形態では、本発明の記録媒体に格納される情報に係る生物学的活性は、表2における日本語または英語による説明に示される機能を含み、該機能に関する情報が格納される。ここで、含まれる配列および構成ならびに情報に関するより好ましい形態は、上記の形態において記載される任意の形態および構成ならびに情報を利用することができる。

- 25 別の局面では、本発明は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～21

5 7からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体に対する抗体が少なくとも1つ支持体に配置された、生体分子チップを提供する。ここで、含まれる配列および構成ならびに情報に関するより好ましい形態は、
5 上記の形態において記載される任意の形態および構成ならびに情報を利用することができる。

別の局面において、本発明は、表2の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ または $f-3$ の場合、表2に示される配列番号1の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも7
10 0%相同である配列、あるいは表2の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号1087の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列と、相同な配列を有するRNA_i分子を提供する。ここで、RNA_i分子としては、本明細書において詳述される任意の形態を用いる
15 ことができ、当業者は、本発明の配列情報がいったん与えられたならば、適宜任意の適切なRNA_i分子を製造および使用することができる。

好ましい実施形態において、本発明のRNA_i分子は、少なくとも10ヌクレオチド長の二本鎖部分を含むRNAまたはその改変体である。

より好ましい実施形態において、上記RNA_i分子は、3'突出末端を含む。

20 別の好ましい実施形態において、上記3'突出末端は、2ヌクレオチド長以上のDNAである。

他の好ましい実施形態において、上記3'突出末端は、2～4ヌクレオチド長のDNAである。

このようなRNA_i分子は、超好熱始原菌の特定の機能を抑制するために用
25 いられる。任意のRNA_i分子を用いることは、従来できなかったことであり、格別の効果を奏する。

本明細書において引用された、科学文献、特許、特許出願などの参考文献は、

その全体が、各々具体的に記載されたのと同じ程度に本明細書において参考として援用される。

以上、本発明を、理解の容易のために好ましい実施形態を示して説明してきた。以下に、実施例に基づいて本発明を説明するが、上述の説明および以下の
5 実施例は、例示の目的のみに提供され、本発明を限定する目的で提供したのではない。従って、本発明の範囲は、本明細書に具体的に記載された実施形態にも実施例にも限定されず、特許請求の範囲によってのみ限定される。

実施例

10 以下の実施例は、例示であって、本発明を限定しないことが意図される。

(実施例 1 : ゲノム配列決定)

(KOD-1 株の染色体 DNA の調製)

KOD-1 株を、Appl. Environ. Microbiol. 60 (
15 12), 4559-4566 (1994) に記載の 0.5×2216 マリンブロー
ース培地 (2216 マリンブロー: 18.7 g/L、PIPES 3.48
g/L、CaCl₂·H₂O 0.725 g/L、0.4 mL 0.2% レザ
ズリン、475 mL 人工海水 (NaCl 28.16 g/L、KCl 0.
7 g/L、MgCl₂·6H₂O 5.5 g/L、MgSO₄·7H₂O 6.
20 9 g/L)、蒸留水 500 mL、pH 7.0) 1,000 mL に接種して、
2 リットルの発酵槽を用いて培養した。培養に際しては、発酵槽内を窒素ガス
で置換し、同ガスで内圧を 0.1 Kg/cm² に維持した。培養は、温度 85 ±
1 °C にて 14 時間培養した。なお、培養は静置培養で実施し、培養中窒素ガスの
通気および攪拌は行わなかった。培養終了後、培養液 (約 1,000 mL)
25 を 10,000 rpm で 10 分間遠心分離することにより菌体を回収した。

得られた菌体 1 g を 10 mL の A 溶液 (50 mM Tris-HCl、50

mM EDTA、pH 8.0) に懸濁し、遠心分離 (8,000 rpm、5 分間、4℃) により集菌後、3 ml の 15% ショ糖を含む A 溶液に懸濁し、37℃ にて 30 分間保温後、1% N-ラウリルサルコシンを含む A 溶液 3 ml を添加した。この液にさらに 5.4 g の塩化セシウムおよび 10 mg/ml の臭化エチジウム溶液 300 μ l を添加し、55,000 rpm、16 時間、18℃ にて超遠心分離を行い、染色体 DNA を分画した。得られた染色体 DNA 画分から n-ブタノール抽出により臭化エチジウムを除去後、TE 溶液 (10 mM Tris-HCl (pH 8.0)、0.1 mM EDTA) に対して一夜透析し、染色体 DNA を得た。

10

(染色体ライブラリーのスクリーニング／配列の解析)

ゲノム配列の決定は、一般的に行われているボトムダウンアプローチに準じて行った。その概要は以下のとおりである。まず、単離された DNA を断片化し、pUC などのクローニングベクター中にクローニングした。次に、クローニングされた断片をショットガン配列決定を行って配列決定した。これにより 400-500 bp の断片の配列が決定された。この配列決定は、1 Mb p あたりおよそ 15,000 個行った。各々決定された配列をアセンブルしてコンティグと称する一群の配列が判明する。この後、コンティグの間のギャップ (物理的ギャップおよび配列ギャップ) をクローニングして、ギャップの配列を決定しギャップを埋めた。その後、塩基配列データの解析を行い、オープンリーディングフレームを同定しアノテーション (annotation) を行った。より詳細には以下のとおりに行った。

第一に、ゲノムライブラリーを構築した。ここでは、遺伝子配列による偏りを防ぐために、制限酵素を用いた部分消化法ではなく、物理的な切断を行った。この際、複数の長さのライブラリーを構築した。ここでは、2-3 kbp の断片を含むプラスミドライブラリーおよび約 20 kbp の λ ファージライブラリ

ーを構築した。

第二に、プラスミドライブラリーのショットガン配列決定を行った。配列決定は、Applied Biosystemsから市販される配列決定装置を用いた。ここで、配列決定は、400-500bpの塩基配列を約15000
5 0個/1Mbps得るように行った。同様に、λファージライブラリーの末端ショットガン配列決定をも行った。これで理論上はゲノム全長を6回以上配列決定する計算になる。

第三に、ショットガン配列決定によって得られた塩基配列データ（約2Mbpsのゲノムに対して約4万個のデータ）をアセンブルしてギャップを埋める作
10 業を行った。この際に、長い断片からなるλファージライブラリーの末端配列データを用いて、各領域の相対的位置および向きを決定した。この作業の後に得られたものは通常コンティグと呼ばれる配列である。本実施例では、多数のコンティグが得られた。その間の配列未決定領域（ギャップ）を埋める作業を行った。コンティグとコンティグとの間のギャップをまたぐような断片が同定
15 されている場合、そのギャップは配列ギャップ（sequence gap）と呼び、まだそのような断片がクローニングされていない場合はそのギャップは、物理ギャップ（Physical gap）と呼ぶ。この物理ギャップを埋める作業は、LA-PCRなどの増幅および塩基配列決定などの操作によって行った。これにより、ほぼすべての配列データがひとつのコンティグ内に収
20 まり、配列決定作業を終了した。

第四に、配列データの解析を行った。オープンリーディングフレーム（ORF）の同定およびそれらのアノテーションを行った。この作業では、Hidden Markovモデル（HMM）およびInterpolated Markovモデル（GLIMMER）などのプログラムを用いることによりOR
25 Fの同定を行った。その後は、各々のORFのBLAST、BLASTXおよびFASTAなどの検索を行って機能を同定した。この後、遺伝学的および生

化学的な解析を行った (Fraser C. M., Res Microbiol., 151, 79-84 (2000); Fraser C. M. et al., Nature, 406, 799-803 (2000); Nelson et al., Nat Biotechnol., 18, 1049-1054 (2000)
5); Kawarabayashi Y. et al., DNA Res., 6, 83-101, 145-222 (1999) などを参照)。

以上のようにして決定した核酸配列は配列番号1 (配列番号1、342および723はプラス (センス) 鎖、配列番号1087、1469および1838はマイナス (アンチセンス) 鎖) に示される配列であった。

10

(各遺伝子の機能分析)

次いで、各遺伝子のアミノ酸配列をソフトウェアDNASIS、BLAST、およびCLUSTAL Wを使用して、EMBL、PDBなどのデータベースに登録されている公知のタンパク質のアミノ酸配列と比較した。この結果、種
15 々のポリペプチドのアミノ酸配列との高い相同性が見出されたことから、それらの各遺伝子の機能が推定 (infer) された (上記表2を参照)。

(実施例2：ターゲティング (ダブルクロスオーバー破壊))

(菌株および増殖条件)

20 T.kodakaraensis KOD1 およびその誘導体は、リッチ増殖培地 (ASW-YT) またはアミノ酸含有合成培地 (ASW-AA) 中で85℃で厳密な嫌気性条件下で培養した。ASW-YT培地は、人工海水を1.25倍に希釈し (ASW×0.8) たものに、5.0g/Lイーストエキストラクト、5.0g/Lトリプトン、および0.2g/L硫黄元素 (pH6.6) を含む。ASWの
25 組成は以下のとおりである：NaCl 20g; MgCl₂·6H₂O 3g; MgSO₄·7H₂O 6g; (NH₄)₂SO₄ 1g; NaHCO₃ 0.2g; CaCl₂·2H₂O 0.3g; KCl 0.5g; NaBr 0.05g;

$\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.02g; および $\text{Fe}(\text{NH}_4)$ クエン酸 0.01g。ASW-AA培地は、
 0.8×ASWに5.0ml/L改変Wolfe微量鉱物 (0.5g $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0.1g CoCl_2 ; 0.1g ZnSO_4 ; 0.01g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0.01g $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$; 0.01g H_3BO_3 ;
 5 および0.01g $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を1L中に含む)、5.0ml/Lの
 ビタミン混合物 (以下の文献を参照)、20種のアミノ酸 (250mg システ
 イン・HCl; 75mg アラニン; 125mg アルギニン・HCl; 100mg
 アスパラギン・ H_2O ; 50mg アスパラギン酸; 50mg グルタミン、20
 0mg グルタミン酸; 200mg グリシン; 100mg ヒスチジン・HCl・
 10 H_2O ; 100mg イソロイシン; 100mg ロイシン; 100mg リジン・H
 Cl; 75mg メチオニン; 75mg フェニルアラニン; 125mg プロリン;
 75mg セリン; 100mg スレオニン; 75mg トリプトファン; 100mg
 チロシン; および50mg バリンを1L中に含む) ならびに0.2g/L硫
 黄元素 (pHはNaOHで6.9に調整した) を補充したものである (Rob
 15 b, F. T., and A. R. Place. 1995. Media for T
 hermophiles, p. 167–168. In F. T. Robb a
 nd A. R. Place (ed.) *Archaea: a laborat
 ory manual—Thermophiles*. Cold Spring
 Harbor Press, Cold Spring Harbor, N. Y.)。
 20 必要に応じて、5-FOA (和光純薬、大阪、日本) およびウラシル (興人、
 東京、日本) をASW-AA培地に、Robbに記載されるような濃度で添加
 した。トリプトファン栄養要求性を調べるために、トリプトファン欠損ASW
 -AA, ASW-AAW⁻を用いた。培地中の溶解酸素を減らすために、5.0%
 $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ を、リザズリンナトリウム塩 (1.0mg/L) の色がなく
 25 なるまで加えた。プレート培養の場合、1.0% (w/v) ゲルライト (Ge
 lrite) (和光純薬) を加えて、培地を、硫黄元素および5.0% $\text{Na}_2\text{S} \cdot$

9 H₂O溶液の代わりに2. 0 ml / L ポリスルフィド溶液 (10 g Na₂S · 9 H₂O および 3. 0 g の硫黄元素 / 15 ml) で固化させた。細胞は、嫌気性のチャンバ (エスベック (Tabai Espec) 大阪) 中で85℃でインキュベートした。

- 5 DNA操作一般のために使用したE. coli株であるDH5αは、LB培地 (Sambrook, J., and D. Russell. 2001. Molecular cloning: a laboratory manual, 3rd edn. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N. Y.) でルーチンで培養し、そして5
10 0 μg / ml アンピシリンを必要に応じて補充した。

(UV 照射での変異誘発および5-FOA 耐性変異体の単離)

- T. kodakaraensis* KOD1 は、2. 0 L の ASW-AA 液体培地で39時間にお
たり培養した。定常期の細胞を、遠心分離 (6, 000 × g、30分) で採集
15 した。以下の手順を嫌気性チャンバにおいて嫌气的に行った。細胞を、60 ml
の ASW 中に再懸濁し (3 / 100 容積)、そして懸濁物の一部 (10 ml) を
ペリルディッシュに入れた。攪拌しながら、その懸濁物を15W 殺菌ランプから
20 cm の距離で適切な時間 (0秒、30秒、60秒、90秒および120秒)
UV 照射した。アリコート (200 μl) を、0. 75% 5-FOAを含むAS
20 W-AAプレート培地に広げ、ウラシル栄養要求性 (Pyr⁻) 変異体をドミナ
ントスクリーニングした。得られた変異体の増殖を支持するために10 μg /
ml ウラシルを含めた。この細胞を、85℃で5日間インキュベートした。生
存細胞数を、細胞懸濁物を適切な希釈率で5-FOAを含まないASW-AA
プレート培地に播種し、形成されるコロニーを計数することによって判定した。
25 5-FOA耐性コロニーを分離し、ASW-YT液体培地中で培養した。増
殖した細胞を2日間ASW-AA液体培地中でインキュベートしてウラシルの

持込を除き、さらに、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ ウラシルを添加したかまたは添加しないASW-AA液体培地中に継代培養して、分離体のウラシルの栄養要求性を調べた。

5 (酵素アッセイ)

T. kodakaraensis KOD1およびその変異体株の無細胞抽出物を以下のように調製した。細胞を、ASW-YT液体培地中で20時間培養し、遠心分離で採取 ($6,000\times g$, 30分) し、そして1/1000容積のTriton X-100を0.1%含む50mM Tris-HCl (pH 7.5) 中で溶解した。ボルテックスで10分間混合後、遠心分離 ($3,000\times g$, 20分間) 後の上清を無細胞抽出物として用いた。タンパク質濃度をBio-Rad Protein Assay System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) を用い、標準としてウシ血清アルブミンを用いて決定した。

15 オロチジン-5'-モノホスフェートデカルボキシラーゼ (OMPdecase, PyrF) 活性は、オロチジン-5'-モノホスフェート (OMP) のウリジン-5'-モノホスフェート (UMP) への変換に由来する285nmでの吸光度の減少 ($\Delta\epsilon_{285} = 1,380\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) をモニターすることによって決定した (Beckwith, J. R., A. B. Pardee, R. Austrian, and F. Jacob. 1962.

20 Coordination of the synthesis of the enzymes in the pyrimidine pathway of *E. coli*. J. Mol. Biol. 5: 618-634.). アッセイ混合物は、総容量1ml中、100mM Tris-HCl (pH 8.6)、1.5mM MgCl_2 、0.125mM OMP、および酵素溶液から構成される。キャップしたキュベット中でこの混合物を85℃で5分間予備インキュベートした後、
25 この反応、酵素溶液を添加することによって開始し、そして10分間同じ温度でモニターした。

オロチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (OPRTase, PyrE) 活性は、
295 nmでオロチン酸を分光光度学的に測定することによってアッセイした。
pyrE⁺株からの酵素サンプルを測定するとき、反応産物OMPの内因性OM
Pデカーゼによる連続的な脱カルボキシル化を考慮しなければならない。OM
5 Pデカーゼ活性は、*T. kodakaraensis*におけるOPRTアーゼ
活性よりも高いことから、OPRTアーゼ活性は、 $3,670 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ の $\Delta\epsilon_{295}$ で
性格に決定され得る。これは、オロチン酸からOMPを経てUMPへと変換される
ことに対応する。*pyrF*⁻株の場合、本発明者らは、 $2,520 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ の $\Delta\epsilon_{295}$ で
開始基質からOMPへの変換をモニターした。この反応を、Tris-HCl (pH
10 8.6), 1.5 mM MgCl₂, 0.125 mM オロチン酸, 無細胞抽出物および1.6 mM
5-ホスホリボシルピロホスフェート (PRPP) を含む1 ml 混合物中で行った。こ
のPRPPを含まないアッセイ混合物はキャップしたキュベット中にあり、8
5℃で10分間予備インキュベートし、そしてその反応を、PRPPの添加に
より開始した。 A_{295} における減少は、同じ温度で3分間にわたり測定した。

15

(DNA操作および配列決定)

一般的なDNA操作は、Sambrook and Russelに記載さ
れるように行なった (Sambrook, J., and D. Russel. 2001. Molecular
cloning: a laboratory manual, 3rd edn. Cold Spring Harbor Press,
20 Cold Spring Harbor, N. Y.)。 *T. kodakaraensis* のゲノムDNAは、
上述のように単離した。PCRは、KOD -Plus- (東洋紡、大阪、日本) をD
NAポリメラーゼとして用いて行なった。PCRのために使用したプライマーの
配列は、以下に示される。必要に応じてPCRによって増幅したDNAフラグ
メントは、T4キナーゼ (東洋紡) によってリン酸化した。制限酵素および改
25 変酵素は、寶酒造 (京都、日本) または東洋紡から購入した。アガロースゲル
電気泳動後のDNAフラグメントを回収し、そしてGFX PCR DNAお

よび Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) で精製した。プラスミド DNA は、Qiagen Plasmid Kits (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて単離した。DNA 配列決定は、ABI PRISM キットおよびモデル 3100 キャピラリー配列決定機 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いて行った。

(pUDT および pUDT2 の構築)

2つの破壊ベクター pUDT1 (配列番号 2158) および pUDT2 (配列番号 2159) を、*T. kodakaraensis* における、シングルクロスオーバー事象およびダブルクロスオーバー事象のそれぞれの相同組み換えのために構築した。構築は以下のとおりである。Tk-py r.F を含む DNA フラグメント (676 bp) を以下のプライマー TK1-DUR/TK1-DUF を用いて *T. kodakaraensis* KOD1 ゲノム DNA から増幅した：

TK1-DUR/TK1-DUF : 5' -GGGCATATGGAGGAGAGCAGGCTCATTCTGGCG-3' (配列番号 2160) / 5' -CTGAGGGGGTGTGTTGACTTTCAA-3' (配列番号 2161)、ここで下線付き配列は、Nde I 部位を示す。

推定プロモーター領域 (130 bp) は、プライマー TK2-DPR/TK2-DPF で増幅した：

TK2-DPR/TK2-DPF : 5' -GGGCTGCAGCCGCAACGCGCATTTTGCTCACCCGAA AA-3' (配列番号 2162) / 5' -GGGCATATGCATCACCTTTTAAACGGCCCTCTCCAAGAG-3' (配列番号 2163)、ここで下線付き配列は、Pst I および Nde I 部位をそれぞれ表す。

両方のフラグメントを、適切なプロモーター py r.F 方向で pUC118 中にサブクローニングした。得られたプラスミドを、pUD (3, 944) と命名した。Tk-trpE の短縮フラグメント (788 bp) を、以下のプライマー

TK3-DTR/TK3-DTF を用いて増幅した：

TK3-DTR/TK3-DTF：5' -GGGGCATGCGGTGGCTT CGTTGGCTACGTCTCCTACG-3' (配列番号 2 1 6 4) /5' -GGGCTGCAGTTCGGGGCTCCGGTTAGTGTTCCCGCCG-3' (配列番号 2 1 6 5)、下線付き配列は、*Sph* I および *Pst* I の部位をそれぞれ示す。ついで、これを、pUDと*Sph* I および*Pst* 部位で連結して、pUDT1を (4 7 3 2 b p) 得た。

pUDT2を構築するために、*Tk-trpE* およびフランキング領域を含むフラグメント (2 2 2 3 b p) を以下のプライマーTK4-DT2R/TK4-DT2Fを用いて増幅した：TK4-DT2R/TK4-DT2F：5' -GGGGTCGACCGGG TCTGGCGAGGGCAATGAGGGAC-3' (配列番号 2 1 6 6) /5' -GGGGAATTCGGTTATAGTGTTCGGAACGACCTTCACTC-3' (配列番号 2 1 6 7)、下線付き配列は、それぞれ*Sal* I 部位および*Eco* R I 部位を示す)。これをついで、pUC119中に*Sal* I および*Eco* R I 部位でサブクローニングした。得られたプラスミドは、pUT4 (5, 3 4 0 b p) と命名した。pUDは*Pvu* IIで消化し、ついでp*yrf* およびその推定プロモーター領域 (1 1 0 4 b p) を含むフラグメントを単離した。pUDT2 (6, 012 bp) は、pUT4内のこの単離されたフラグメントを、*Tk-trpE* 中の平滑*Sac* I 部位に挿入することによって得た。

T. kodakaraensis における相同組換えのための直鎖状DNAフラグメントは、PCRでpUDT2をテンプレートとして調製し、そしてアガロースゲル電気泳動後に精製した。

(*T. kodakaraensis* の形質転換) *Methanococcus voltae* PS のための塩化カルシウム法 (Bertani, G., and L. Baresi. 1987. Genetic transformation in the methanogen *Methanococcus voltae* PS. J. Bacteriol. 169:2730-2738.) を、*T. kodakaraensis* の形質転換のために改変した。*T. kodakaraensis*

KU25 は、ASW-YT液体培地で12時間培養し、そして細胞を、3mlブロスから対数増殖期後期で採取し(17,000 × g、5分)、200μlの形質転換緩衝液(カルシウムカチオンとリン酸基との間の沈降現象を避けるためにKH₂PO₄ を含まない0.8×改変ASW中の80mM CaCl₂) (1/15容積) 中に再懸濁した。これを、30分間氷上で維持した。ついで、3μgのDNAをTE緩衝液に溶解し、これをその懸濁液に加えた。そして細胞を氷上で1時間インキュベートし、続いて45秒間85℃で熱ショックを与え、さらに、氷上で10分間インキュベートした。コントロール実験として、等容積のTE緩衝液を、DNA溶液のかわりに細胞に加えた。処理した細胞を、20mlのASW-AA液体培地中で、ウラシルの非存在下で2世代培養してPyr⁺形質転換体をスクリーニングしそして濃縮した。ついで、この細胞を、ウラシルを含まないASW-AAプレート培養物中に広げ、そして85℃で5-8日インキュベートした。得られたPyr⁺株は、コロニーPCRおよびDIG-DNA標識および検出キット(Boehringer Mannheim, Mannheim, ドイツ)を用いたサザンハイブリダイゼーションを行って分析した。

(実験手順)

ダブルターゲティング破壊では、環状DNA分子を用いてダブルクロスオーバー破壊を用いた遺伝子のターゲティング破壊を行った。その模式図を図1に示す。

(破壊ベクターの作製)

(KOD1の調製)

上述のようにKOD-1株を調製した。

(形質転換および相同的組換え)

上述のように形質転換したKOD-1株は、ASW-AAで維持した。この際、KOD-1株は、持込ウラシルによって増殖する。

次に、このKOD-1株を新鮮なアミノ酸液体培地に植え継いだ。新鮮なアミノ酸液体培地において増殖するものは、相同的組換えが起こったPyrF+株のみであることから、これにより、相同的組換えが起こったものについてのスクリーニングおよび濃縮が行われたことになる。

次に、増殖した株を、ASW-AAに植え継いだ。次にこの固体培地上で増殖したコロニーをコロニーPCRおよびサザンブロット分析で確認した。その手順を以下に示す。

10 反応混合物：2.5ユニット KODポリメラーゼ（東洋紡） 0.5 μ l；
10 \times KODポリメラーゼ緩衝液（東洋紡） 5.0 μ l；25mM MgCl₂
4.0 μ l；dNTP混合物 4.0 μ l；20 pmol/ μ lプライマー1
0.5 μ l；20 pmol/ μ lプライマー2 0.5 μ l；滅菌水 37.
0 μ l；細胞懸濁液 0.5 μ l。この反応混合物を以下の反応条件で行った：
15 96 $^{\circ}$ C 2分間；96 $^{\circ}$ C 30秒、55 $^{\circ}$ C 3秒、72 $^{\circ}$ C 30秒を30サイクル；7
2 $^{\circ}$ Cを3分間。

コロニーPCRおよびサザンブロット分析を行ったところ、以下の結果が得られた。

【表 3】 ダブルクロスオーバーによる遺伝子ターゲティング破壊

	コントロール	形質転換体 1	形質転換体 2
C a C l ₂	+	+	+
D N A	T E 緩衝液	p U D T 2	p U D T 2
持ち込みウラシル 存在下でのアミノ 酸液体培地中での 増殖	増殖せず	増殖	増殖
T / C	入手不可	1 2 / 1 2	5 / 1 2
総 T / C	入手不可	1 7 / 2 4	

T / C は、目的の形質転換体 / コロニー P C R により検討したクローン数 (すなわち、P y r F⁺株) を意味する。

- 5 上記結果のように、環状分子を用いたダブルクロスオーバーによる遺伝子のターゲティング破壊は非常に高率で進むことがわかった。

(実施例 3 : ダブルクロスオーバー破壊の例 : 線状 D N A を用いた場合)

次に、線状 D N A 分子を用いたダブルクロスオーバー破壊の例を示す。

(破壊ベクターの作製)

- 10 線状の破壊ベクターとして図 2 に示すような線状 D N A 分子 L i n e a r D N A を調製した。L i n e a r D N A は、実施例 2 において作製した p U D T 2 をテンプレートとして、適切なプライマーを用いて増幅することにより得た。

- 15 (K O D 1 の調製)

実施例 2 に記載のように K O D - 1 株を調製した。

(形質転換および相同的組換え)

調製したKOD-1株を塩化カルシウム法によりLinear DNAを用いて形質転換した。形質転換したKOD-1株は、ASW-AAで維持した。この際、KOD-1株は、持込ウラシルによって増殖する。

次に、このKOD-1株を新鮮なアミノ酸液体培地に植え継いだ。新鮮なアミノ酸液体培地において増殖するものは、相同的組換えが起こったPy r F+株のみであることから、これにより、相同的組換えが起こったものについてのスクリーニングおよび濃縮が行われたことになる。

次に、増殖した株をASW-AAに植え継いだ。次にこの固体培地上で増殖したコロニーをコロニーPCRおよびサザンブロット分析で確認した。その手順を以下に示す。

コロニーPCRおよびサザンブロットは上述のように行った。

このように分析した結果、以下の結果が得られた。

【表4】 ダブルクロスオーバーによる遺伝子ターゲティング破壊

	コントロール	形質転換体3	形質転換体4
CaCl ₂	+	+	+
DNA	TE緩衝液	Linear DNA	Linear DNA
持ち込みウラシル存在下でのアミノ酸液体培地中での増殖	増殖せず	増殖	増殖
T/C	入手不可	7/12	0/12
総T/C	入手不可	7/24	

T/Cは、目的の形質転換体/コロニーPCRにより検討したクローン数(す

なわち、P y r F⁺株)を意味する。

上記結果のように、線状分子を用いたダブルクロスオーバーによる遺伝子のターゲティング破壊は環状分子に比べて低率ではあるが、それでも十分に高率で進むことがわかった。環状分子より低い原因としては、宿主由来のヌクレアーゼによる切断などが考えられる。

また、上記結果に続き、線状DNAの場合に好ましい長さを調べたところ、両末端にそれぞれ少なくとも500塩基ずつあれば、約5%以上の確率でターゲティング破壊が進み、両末端に少なくとも1000塩基ずつあれば、約20%以上の確率でターゲティング破壊が進んでいたことも確認した。従って、線状分子を使用した場合のターゲティング破壊では、少なくとも500塩基、好ましくは少なくとも1000塩基の核酸配列が両端に必要であることがわかる。

(実施例4：ダブルクロスオーバー破壊の例：他の遺伝子)

上述の遺伝子以外の遺伝子（例えば、配列番号395（トリプトファンシンターゼ）をコードする配列）を選択してトリプトファン栄養要求性をもとに同様の実験を行ったところ、同じようなターゲティング破壊を行うことができた。

(実施例5：シングルクロスオーバー破壊)

次にシングルクロスオーバー破壊システムを用い環状分子を用いた場合の遺伝子のターゲティング破壊を行った。その模式図を図3に示す。pUDT1（配列番号2158）は上述のように作製した。

(KOD1の調製)

実施例2に記載のようにKOD-1株を調製した。

(形質転換および相同的組換え)

調製したKOD-1株を塩化カルシウム法により形質転換した。形質転換したKOD-1株は、ASW-AAで維持した。この際、KOD-1株は、持込ウラシルによって増殖する。

- 次に、このKOD-1株を新鮮なアミノ酸液体培地に植え継いだ。新鮮なアミノ酸液体培地において増殖するものは、PyrF⁺株のみであることから、これにより、相同的組換えが起こったものについてのスクリーニングおよび濃縮が行われたことになる。

- 次に、増殖した株を、ASW-AAに植え継いだ。次にこの固体培地上で増殖したコロニーをコロニーPCRおよびサザンブロット分析で確認した。その手順を以下に示す。

コロニーPCRは、およびサザンブロット分析は、上述のように行った。。

このように分析した結果、以下の結果が得られた。

【表5】 シングルクロスオーバーによる遺伝子ターゲティング破壊

	コントロール	形質転換体5	形質転換体6
CaCl ₂	+	+	+
DNA	TE緩衝液	pUDT1	pUDT1
持ち込みウラシル存在下でのアミノ酸液体培地中での増殖	増殖せず	増殖	増殖
T/C	入手不可	1/96	2/96
総T/C	入手不可	3/192	

T/Cは、目的の形質転換体/コロニーPCRにより検討したクローン数（すなわち、PyrF⁺株）を意味する。

上記結果のように、環状分子を用いたシングルクロスオーバーによる遺伝子

のターゲティング破壊は、ダブルクロスオーバーによる遺伝子ターゲティング破壊よりもはるかに低い確率で進むことがわかった。シングルクロスオーバーによる効率がダブルクロスオーバーによる効率よりも低い理由としては、宿主由来の制限酵素による p U D T 1 の切断などが考えられる。

- 5 このように、本発明は、シングル破壊の系でも機能することが実証された。また、線状分子を用いた場合でも、シングル破壊の系は環状分子よりもはるかに低率であるが機能することが判明した。

10 (実施例 6 : シングルクロスオーバー破壊の例 : 他の遺伝子)

実施例 4 と同様の遺伝子をシングルクロスオーバー破壊で行ったところ、実施例 5 と同様に効率はよくないが破壊することができることが判明した。

(実施例 7 : DNA リガーゼ遺伝子の発現)

- 15 ATP 依存性 DNA リガーゼを *E s c h e r i c h i a c o l i* 内で発現させるためには、以下のようなプロトコルを使用した。本発明において同定された DNA リガーゼ (例えば、配列番号 1 1 3 1) の配列を含む、上記ファージクローンのフラグメントを鋳型として 2 種類の DNA リガーゼコード領域のフラグメントを得、これを p U C 1 8 に挿入した。挿入フラグメントのヌクレ
20 オチド配列を確認し、このプラスミドから DNA リガーゼを含むフラグメントをプラスミド p E T 2 1 a (N o v a g e n) に挿入して、プラスミドを構築した。発現および活性の確認は以下のように実施した。

- 上記のプラスミドを用いて *E s c h e r i c h i a c o l i B L 2 1 (D E 3)* 株を形質転換する。出現するアンピシリン耐性形質転換体をアンピシ
25 リン (5 0 μ g / m l) を含有する N Z C Y M 培地 (1 % N Z アミン、0 . 5 % N a C l 、 0 . 5 % イーストエキス、0 . 1 % カザミノ酸、0 . 2 % M g

SO₄・7H₂O (pH 7)) に接種し、37℃でOD₆₆₀が0.3になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに37℃で培養を継続する。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより可溶性画分を回収し、次いで70℃で10分間熱処理する。熱安定性可溶性画分を遠心分離することにより試料を得た。この試料をさらに周知の種々の精製方法またはその組み合わせを使用してさらに精製し得る。

酵素活性は、λファージDNAのHindIII消化物に得られた試料を作用させた後、反応物をアガロースゲル電気泳動し、DNAフラグメントの移動度の変化を観察する方法、または³²Pで標識したオリゴdTに得られた試料を作用させ、未反応の³²Pをアルカリホスファターゼで除去し、次いで放射活性を測定する方法などによって測定される (Rossi, R. ら, (1997) Nucleic Acids Research, 25 (11): 2106-2113; Odell, M. ら, (1996) Virology 221: 120-129; Srisukanda, V. ら, (1998) Nucleic Acids Research, 26 (20): 4618-4625; Takahashi, M. ら, (1984) The Journal of Biological Chemistry, 259 (16): 10041-10047) を参照のこと)。

(実施例 8 : 蟻酸脱水素酵素の発現および確認)

蟻酸脱水素酵素 (デヒドロゲナーゼ) は、蟻酸イオンをCO₂に酸化する反応を触媒する酵素である。その反応は式HCOO⁻+NAD⁺⇌CO₂+NADHで表される。ここで、NAD (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド; 還元型はNADH) は、酸化還元酵素反応に関与する補酵素の1つである。

蟻酸脱水素酵素活性は、例えば、電子受容体としてNADP⁺ (340 nm、ε=6.22×10³)、メチルビオロゲン (600 nm、ε=1.13×1

04)、またはベンジルビオログエン (605 nm、 $\epsilon = 1.47 \times 10^4$) を用いて測定される (Andreesen, J. R. ら (1974) J. Bacteriol., 120:6-14)。

5 公知の蟻酸脱水素酵素には、 α サブユニットのみからなるホモ二量体、 α および β サブユニットからなるヘテロ二量体および四量体、ならびに α 、 β 、および γ サブユニットからなる十二量体などがある。

本発明の蟻酸脱水素酵素は単一または複数のサブユニットからなり得る。好ましくは、本発明の蟻酸脱水素酵素は2種類以上のサブユニットからなる。

10 (耐熱性蟻酸脱水素酵素の発現)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる蟻酸脱水素酵素 (配列番号305、673、1050および1051) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、プラスミドpET21a/fdhABを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

20 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5% イーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルー β -D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を蟻酸脱水素酵素活性を常法 (Andreesen, J. R. から (1974) J. Bacteriol., 120:6-14) に従って測定したところ、蟻酸脱水素酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

5

(実施例9：超耐熱性 β -グリコシダーゼ)

β -グリコシダーゼは、 β -グリコシド結合を加水分解する酵素群の総称である。 β -グリコシダーゼには例えば、 β -グルコシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、 β -マンノシダーゼ、 β -フルクトシダーゼなどが含まれる。

10 β -グリコシダーゼの一種である β -ガラクトシダーゼは、 β -D-ガラクトシドを加水分解してD-ガラクトースを生成する酵素である。 β -ガラクトシダーゼのラクトース (グルコース- β -D-ガラクトシド) をグルコースとガラクトースとに分解する能力は、牛乳中のラクトースを処理して低ラクトース乳を生産するために利用されている。この目的のためには、酵素を牛乳中に
15 添加する方法に加えて、固定化酵素の利用も検討されている。一般に、固定化酵素として利用される酵素は、使用される反応条件 (pH、温度など) において高い活性を示し、そして構造的に安定性であることが好ましい。

本明細書では、 β -ガラクトシダーゼは、 β -D-ガラクトシドを加水分解してD-ガラクトースを生成する酵素であり、系統名 β -D-ガラクトシドガラクトヒドロラーゼを有するものをいう。本発明の β -グリコシダーゼは、 β -
20 β -ガラクトシダーゼ活性に加えて、 β -グルコシダーゼ、 β -マンノシダーゼおよび/または β -キシロシダーゼ活性を有し得る。本発明の β -グリコシダーゼは、オリゴ糖を加水分解する活性に加えて転移活性を有し得る。

25 (β -グリコシダーゼの発現)

上述の実施例と同様の方法を用いて β -グリコシダーゼ (配列番号1122)

を発現させた。出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 ($1\% \text{NZアミン}$ 、 $0.5\% \text{NaCl}$ 、 $0.5\% \text{イーストエキス}$ 、 $0.1\% \text{カザミノ酸}$ 、 $0.2\% \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($\text{pH} 7$)) に接種し、 37°C でOD660が0.5になるまで培養し、次いでイソプロピルー β -D-チオガラクトピラノシド (IPTG、 0.1 mM) を添加し、さらに 37°C で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより可溶性画分を回収し、次いで 85°C 30分間熱処理した。熱安定性可溶性画分を遠心分離することにより得られた試料を濃縮した後、これをドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) に供したところ、予想された分子量のバンドが検出され、このバンドはIPTGの誘導後の時間とともに増加した。

上記の熱処理した試料を使用して本発明の β -グリコシダーゼの酵素化学的性質を検討した。酵素活性の測定方法については、Pisani, F. M. ら、Eur. J. Biochem., 187, 321-328 (1990) を参照のこと。1分間当たり $1 \mu\text{mol}$ のp-ニトロフェノールを遊離させる酵素活性を1Uとした。

本発明の β -グリコシダーゼの至適pHを調べた。反応は、酵素 $1.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ を含む各種緩衝液中で 2.8 mM pNp- β -グルコピラノシドを基質として 75°C で実施した。使用した緩衝液はリン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH} 6 \sim 8$)、クエン酸緩衝液 ($\text{pH} 4 \sim 6$)、ホウ酸緩衝液 ($\text{pH} 8 \sim 9$)、グリシン緩衝液 ($\text{pH} 8.5 \sim 10$) であった (データ示さず)。この結果は、本発明の β -グリコシダーゼが約6.5に至適pHを有することを示す。

本発明の β -グリコシダーゼの至適温度を調べた。反応は、酵素 $1.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ を含む 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH} 6.5$) 中で 2.8 mM pNp- β -グルコピラノシドを基質として各種温度で実施した (デー

タ示さず)。この結果は、本発明の β -グリコシダーゼが約 100°C に至適温度を有することを示す。また、この結果を用いて、アレニウスプロットを実施したところ、 75°C ($1/T \times 10^{-3} = 2.87$) の付近で直線の傾きが変化していることが判明した。式 $k = A e^{-E/RT}$ (ここで、 k は反応速度定数、
5 E は活性化エネルギー、 R は気体定数、 T は絶対温度、 A は頻度因子である) にこの結果を当てはめると、 $25 \sim 75^{\circ}\text{C}$ の範囲では $E = 53.4 \text{ kJ/mol}$ であり、そして $75 \sim 100^{\circ}\text{C}$ の範囲では $E = 17.7 \text{ kJ/mol}$ であると算出された。

本発明の β -グリコシダーゼの熱安定性を調べた。上記試料を 90°C または
10 100°C で各種時間インキュベートした後、酵素活性を、酵素 $1.5 \mu\text{g/ml}$ を含む 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH } 6.5$) 中で 2.8 mM $\text{pNp-}\beta$ -グルコピラノシドを基質として 80°C で測定した (データ示さず)。この結果は、本発明の β -グリコシダーゼが、 90°C および 100°C において、それぞれ約18時間および約1時間を有することを示す。同様の実験
15 を 110°C において実施したところ、この酵素は約15分間で失活した。

本発明の β -グリコシダーゼの基質特異性を調べた。 2.8 mM の各種基質に対する活性を、酵素 $1.5 \mu\text{g/ml}$ を含む 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH } 6.5$) 中で 80°C で測定したところ、本発明の β -グリコシダーゼが、高い β -グルコシダーゼ活性を有し、そして β -マンノシダーゼ、
20 β -グルコシダーゼおよび β -キシロシダーゼ活性も有することを示す。

これら4つの酵素としての反応速度定数を、 $3.0 \mu\text{g/ml}$ の酵素の、 $0.28 \text{ mM} \sim 5.6 \text{ mM}$ の濃度の基質に対する活性を測定して得たところ、基質としての各々 2 mM のオリゴ糖 (β -ラクトース、セロビオース、セロトリオース、セロテトラオースおよびセロペンタオース) ならびに酵素 1.5μ
25 g/ml を含む 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH } 6.5$) を、 80°C で7時間インキュベートした。次いでこの反応液を薄層クロマトグラフィー (T

L C) にかけた (データ示さず)。β-ラクトース以外のレーンには、グルコースのスポットが観察された。4糖であるセロテトラオースは3糖および1糖にそして5糖であるセロペンタオースは4糖および1糖にそれぞれ分解された。この結果は本発明のβ-グリコシダーゼがエキソ型の加水分解活性を有すること
5 とを示す。

各々 5 mMのセロビオース、セロトリオース、セロテトラオースおよびセロペンタオースならびに酵素 3 μg/ml を含む 50 mMリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5) を、80℃で4時間インキュベートした。また同様の反応系においてセロテトラオースを0、1、2、4および7時間インキュベート
10 した。次いでこの反応液を薄層クロマトグラフィー (TLC) にかけた。セロビオース、セロトリオース、セロテトラオースならびにセロペンタオースはそれぞれ2糖、3糖、4糖および5糖であるが、基質としてのこれらの糖より大きなスポットが反応後に観察された。この結果は、本発明のβ-グリコシダーゼがエキソ型の糖分解活性に加えて糖転移活性も有することを示す (ただし、
15 この反応条件においては、反応時間とともにグルコースおよびセロビオースが増加し、このことは、この条件下では転移反応よりも加水分解が経時的に進行したことを示す)。すなわち、本発明のβ-グリコシダーゼは、セロビオースがマンノースにβ-結合したオリゴ糖など、任意の組み合わせのβ-結合を有するオリゴ糖の合成に応用され得る。

20

(実施例 10：超耐熱性キチナーゼ)

キチンはムコ多糖の一種であり、β-ポリ-N-アセチルグルコサミンの構造を有する。キチンは、節足動物、軟体動物、甲殻類、昆虫類、菌類、細菌などの細胞壁物質として天然に多量に存在するキチナーゼはキチンを加水分解する酵素であり、カタツムリの胃液、昆虫の脱皮液、果実の果皮、微生物などに
25 において見出されている。この酵素は、キチンのβ-1, 4結合を加水分解して

N-アセチルグルコサミンを生成する酵素であり、系統名ポリ (1, 4-β-(2-アセトアミド-2-デオキシ-D-グルコシド)) グリカノヒドロラーゼを有する。

キチナーゼは、上記のように自然界に多量に存在するキチンを、微生物などにより利用可能な形態に分解する目的において工業的に有用であり得る。また、キチナーゼは、植物においては、本来病原菌に対する防御機構における役割を果たしていると考えられているので、この酵素をコードする遺伝子を導入することによる、耐病性植物の開発が試みられている。

10 (超耐熱性キチナーゼの発現)

上述の実施例に記載されるように、超耐熱性キチナーゼ (配列番号 991) を発現させた。出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μg/ml) を含有する NZCYM 培地 (1% NZ アミン、0.5% NaCl、0.5% イーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% MgSO₄ · 7H₂O (pH 7)) に接種し、37℃ で OD₆₆₀ が 0.3 になるまで培養し、次いでイソプロピルー β-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに 37℃ で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより可溶性画分を回収し、次いで 70℃ 10 分間熱処理した。熱安定性可溶性画分を遠心分離することにより得られた試料をドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) に供したところ、予想された約 130 kDa のバンドが検出された。

上記の熱処理した試料を、硫酸沈澱 (40% 飽和)、陰イオン交換カラム (HiTrap Q)、ゲル濾過カラム、および陰イオン交換カラム (Mono Q) を使用して、SDS-PAGE で単一バンドとして観察されるまで精製した。

酵素活性を「キチン・キトサン実験マニュアル」(キチン・キトサン研究会編、

技報堂出版) に記載の方法に従ってコロイダルキチンを基質として測定した。

1 分間当たり $1 \mu\text{mol}$ の N-アセチルグルコサミンに相当する還元糖を生成する酵素量を 1 U とした。

基質となるコロイダルキチンを以下の手順で調製した。キチン (和光純薬工業) 10 g を、85%リン酸 500 ml に溶解して -4°C で 24 時間攪拌した。この粘ちょうな液体を、10 倍量の脱イオン水に攪拌しながら添加した。遠心分離によって沈澱を得、これを脱イオン水で pH が 5.0 以上になるまで繰り返し洗浄した。NaOH で pH を 7.0 に調整し、次いでさらに 1 回脱イオン水で洗浄した。これを少量の水に溶解し、オートクレーブした。

10 本発明の超耐熱性キチナーゼの至適温度を、上記精製酵素の活性を、50 mM リン酸ナトリウム (pH 7.0) 中で、60 分間、種々の温度で測定することにより決定した。反応は氷冷により停止した (データ示さず)。本発明の超耐熱性キチナーゼは、約 80°C に至適温度を有することが示された。

15 本発明の超耐熱性キチナーゼの至適 pH を、上記精製酵素の活性を、 80°C で、60 分間、以下の緩衝液を使用して種々の pH で測定することにより決定した：50 mM クエン酸水素 2 ナトリウム-HCl (pH 2.5~4.0)；50 mM 酢酸ナトリウム (pH 4.0~5.5)；50 mM MES-NaOH (pH 5.5~7.0)；50 mM Tris-HCl (pH 7.0~9.0)；50 mM グリシン-NaOH (pH 9.0~10.0)。反応は氷冷により停止した。結果を図 5 に示す。本発明の超耐熱性キチナーゼは、約 4.0 に至適 pH を有することが示された。さらに、pH 8.0 付近においても、ピークが観察された。

25 本発明の超耐熱性キチナーゼの活性に対する塩の影響を、上記精製酵素の活性を、種々の濃度の塩 (NaCl または KCl) を添加した 50 mM リン酸ナトリウム (pH 7.0) 中で、120 分間、 80°C で測定することにより検討した。反応は氷冷により停止した (データ示さず)。本発明の超耐熱性キチナ

ーゼの活性は、塩の添加とともに上昇し、特にKClの添加により約2倍まで上昇した。

本発明の超耐熱性キチナーゼのオリゴ糖およびコロイダルキチンに対する作用を検討した。使用したオリゴ糖は、N-アセチル-D-グルコサミン(G1)、
5 ジーN-アセチル-キトビオース(G2)、トリ-アセチル-キトリオース(G3)、テトラ-アセチル-キтетラオース(G4)、ペンターN-アセチル-キトペンタオース(G5)、およびヘキサ-アセチル-キトヘキサオース(G6)である。0.7mgの各々のオリゴ糖、70mM酢酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)、200mM KCl、および精製酵素(G1~G3)
10 については0.9μg、G4~G6については1.8μgを含む50μlの反応液を、80℃でインキュベートし、そして0、5、15、30、60、または120分でサンプリングした。コロイダルキチンについては、0.16mgのコロイダルキチン、50mM酢酸ナトリウム緩衝液(pH5.0)、および0.6μgの精製酵素を含む1mlの反応液を、80℃でインキュベートし、
15 そして1.5、3.0、および4.5時間でサンプリングし、遠心分離により20倍濃縮した。次いで、これらを、以下のようにTLCに供した。Kieselgel 60 silica gel plate (Merck社)にサンプリングした液をスポットし、展開液(n-ブタノール：メタノール：25%アンモニア溶液：水=5：4：2：1)を使用して展開した。展開後、プレートを乾燥させ、これに発色試薬(アニリン4ml、ジフェニルアミン4g、アセトン200ml、85%リン酸30mlを混合して調製した)を噴霧し、そしてこれを180℃で約5分間加熱して、発色させた(データ示さず)。
20

これらの結果から、本発明の超耐熱性キチナーゼは、二糖以下の基質には分解作用を示さず、そしてキチンを基質とした場合に、主要生成物として二糖の
25 キトビオースを生成することが示された。

本発明の超耐熱性キチナーゼの4-メチルウンベリフェロン(4-MU)オ

リゴ糖に対する作用を検討した。G l c N A c - 4 - M U、G l c N A c 2 - 4 - M U、またはG l c N A c 3 - 4 - M U (0.01 mM) 10 μ l、100 mM酢酸緩衝液 (pH 5.0) 990 μ l、および精製酵素20 μ l (18 ng) を80℃でインキュベートした。0、5、15、30、45、60、
5 または180分で100 μ lの反応液をサンプリングし、これを900 μ lの氷冷100 mMグリシン-NaOH (pH 11) に添加して反応を停止した。この試料の350 nmにおける励起光および440 nmにおける蛍光を分光蛍光光度計を使用して測定した (データ示さず)。この結果、各々の基質に対する反応速度を決定した。

- 10 二糖の誘導体に対する反応速度と、三糖の誘導体に対する反応速度とを比較することによって、酵素の切断様式がエンド型であるかまたはエキソ型であるかを予測し得ることが報告されており (Robbins, P. W., J. Biol. Chem., 263 (1), 443-447 (1988))、ここで二糖の誘導体に対する反応速度がより大きい場合には、その酵素がエキソ型である
15 と予測され、一方三糖の誘導体に対する反応速度がより大きい場合には、その酵素がエンド型であると予測される。この記載に基づけば、本発明の超耐熱性キチナーゼは、エンド型であると判断される。

- 本発明の超耐熱性キチナーゼの各々のドメインが有する機能を、種々の欠失変異体を作製することにより検討した。欠失変異体Pk-ChiA Δ 1 (第1
20 のBacillus circulansキチナーゼ相同領域および2つのセルロース結合ドメインを含む)、Pk-ChiA Δ 2 (第4のStreptomyces erythraeusキチナーゼ相同領域および2つのセルロース結合ドメインを含む)、Pk-ChiA Δ 3 (第1のBacillus circulansキチナーゼ相同領域を含む)、ならびにPk-ChiA Δ 4 (第4
25 のStreptomyces erythraeusキチナーゼ相同領域を含む) を以前の報告 (特開平11-313688) のように作製した。

各々のプラスミドを保有するE. coli 形質転換株の培養物から、70℃
10分間の熱処理によって、粗酵素液を得た。この粗酵素液を、コロイダルキ
チンプレート（0.5%コロイダルキチン、1.5%寒天）にスポットし、そ
してこれをインキュベートすることによって、その活性を検討した（データ示
5 さず）。第1のキチナーゼ相同領域のみを有する欠失変異体はわずかな活性を示
し、第4のキチナーゼ相同領域のみを有する欠失変異体はほとんど活性を示さ
なかった。いずれかのキチナーゼ相同領域および2つのセルロース結合ドメイ
ンを有する欠失変異体は、いずれも高い活性を示した。

欠失変異体Pk-ChiAΔ2およびPk-ChiAΔ4の粗酵素液30μ
10 lを、30μlの1%コロイダルキチンと混合し、そして70℃で1時間イン
キュベートした。次いで、反応液を遠心分離し、上清、およびコロイダルキチ
ンを含む沈澱を得、沈澱については沈澱を50mMリン酸ナトリウム（pH7.
0）で2回洗浄し、そしてこれらをSDS-PAGEに供した（データ示さず）。
これらの結果は、2つのセルロース結合ドメインがキチンとの結合およびキチ
15 ナーゼ活性に必要とされることを示す。

（実施例11：超耐熱性リブロースビスリン酸カルボキシラーゼ）

リブロースビスリン酸カルボキシラーゼは、光合成反応を触媒する酵素であ
り、植物の葉緑体中および光合成能を有する微生物などに存在する。高等植物
20 などのリブロースビスリン酸カルボキシラーゼは、大サブユニット8個および
小サブユニット8個からなる巨大分子であり（タイプI）、植物においては葉の
主要な可溶性タンパク質である。一方、細菌などの微生物のリブロースビスリ
ン酸カルボキシラーゼは、小サブユニットのみからなる（タイプII）。

リブロースビスリン酸カルボキシラーゼは、植物の分類上のマーカーとして
25 利用されており、例えば、細胞融合における細胞のマーカーとして利用されて
いる。さらに地球環境の改善の観点からは、リブロースビスリン酸カルボキシ

ラーゼ遺伝子を改変して、大気中のCO₂の固定化能を上昇させた植物を育種するなどの試みがなされようとしている。同様に光合成細菌の育種または光合成能を有するデバイスの開発なども意図され得る。このような目的において、より高い酵素活性を有し、かつ構造的に安定なリブローズビスリン酸カルボキシラーゼをコードする遺伝子が有用である。

本明細書において、リブローズビスリン酸カルボキシラーゼとは、リブローズリン酸にCO₂を付加して2分子の3-ホスホグリセリン酸を生成する酵素をいう。さらにリブローズビスリン酸カルボキシラーゼはO₂存在下において、リブローズリン酸にO₂を付加して2-ホスホグリコール酸および3-ホスホグリセリン酸を生成する活性（オキシゲナーゼ活性）を有する。

（超耐熱性リブローズビスリン酸カルボキシラーゼの発現）

上述の実施例において記載される方法に従って、PCR法を用いて超耐熱性リブローズビスリン酸カルボキシラーゼ（配列番号338）を発現させた。出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50 μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD₆₆₀が0.5になるまで培養し、次いでイソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、100 mMピシン/KOH（pH8.3）/10 mM MgCl₂ 中で超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより可溶性画分を回収し、次いで85℃30分間熱処理した。熱安定性可溶性画分を遠心分離することにより得られた試料を濃縮した後、これをドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）に供したところ、予想された分子量のバンドが検出され、このバンドはIPTGの誘導後の時間とともに増加

した (データ示さず)。

上記の熱安定性可溶性画分を遠心分離することにより得られた試料を、陰イオン交換カラムResource Q (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)、およびゲル濾過カラム
5 Superdex 200 HR 10/30 (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) を用いてさらに精製し、SDS-PAGEにより単一バンドであることを確認した (データ示さず)。

精製は、AKTA explorer 10S (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) を使用して
10 実施した。陰イオン交換カラムについては、分離を、100 mMピシン/KOH (pH 8.3) / 10 mM MgCl₂の緩衝液に対する、0~1.0 M NaClのグラジエントを使用して実施した。ゲル濾過については、50 mMリン酸ナトリウム/0.15 M NaCl緩衝液を使用した。

15 ゲル濾過を使用した解析によって、発現された酵素は、ラージサブユニットのみの8量体を形成していることが示唆された。

上記の精製した試料のカルボキシラーゼ活性を、D-リブローズ1, 5-ビスホスフェート (RuBP) (Sigma) を基質として、Uemura, K.
ら、Plant Cell Physiol., 37 (3), 325-331 (1
20 996) に記載の方法に従って測定した。

まず、本発明の超耐熱性リブローズビスリン酸カルボキシラーゼの至適pHを調べた。反応は、クエン酸緩衝液 (pH 5.6)、リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.3)、ピシン緩衝液 (pH 7.3、7.8、8.0もしくは8.3)、またはグリシン緩衝液 (pH 9.1もしくは10.1) および10 mM Mg
25 Cl₂を含有する緩衝液中で30 mM RuBPを基質として各種温度で実施し、1分間当たり1mg当たり1μmolのCO₂を固定する活性を1Uと

した。pH 8.3における活性に対する割合としての結果を表した。この結果は、本発明の超耐熱性リブローズビスリン酸カルボキシラーゼが約8.3の至適pHを有することを示す。

5 本発明の超耐熱性リブローズビスリン酸カルボキシラーゼの至適温度を調べた。反応は、100 mMピシナー-KOH (pH 8.3) および10 mM MgCl₂を含有する緩衝液中で30 mM RuBPを基質として各種温度で実施した（データ示さず）。本発明の超耐熱性リブローズビスリン酸カルボキシラーゼは約90℃に至適温度を有することが示された。

10 本発明の超耐熱性リブローズビスリン酸カルボキシラーゼの耐熱性を調べた。精製酵素を80℃および100℃で種々の時間インキュベートした後の残存活性を測定した（データ示さず）。本発明の超耐熱性リブローズビスリン酸カルボキシラーゼは80℃において約15時間の半減期を有することが示された。

15 本発明の超耐熱性リブローズリン酸カルボキシラーゼのカルボキシラーゼ活性およびオキシゲナーゼ活性を50℃～90℃で測定した。さらに、カルボキシラーゼ活性／オキシゲナーゼ活性比である τ 値を算出した（Ezakiら、J. Biol. Chem. (J Biol Chem. 1999 Feb 19; 274 (8): 5078-82) を参照のこと）。

20 大気中の二酸化炭素濃度の上昇から、地球温暖化などの環境問題が生じている。この問題の解決策として、炭酸固定反応を触媒するリブローズリン酸カルボキシラーゼが注目されている。ここで、大気中の酸素濃度対二酸化炭素濃度の比率は約20:0.03であり、酸素が圧倒的に多い。従って、上記のような目的のためには、カルボキシラーゼ反応に対する高い特異性、すなわち大きな τ 値が必要とされる。KOD-1株由来の酵素は、従来のタイプIIの酵素の τ 値（約30～200）およびタイプIの酵素の τ 値（約10）に比較して、
25 高い τ 値を有しているので、より効率的な炭酸固定への応用が期待される。

(実施例12：フルクトース1，6－ビスホスフェートアルドラーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるフルクトース1，6－ビスホスフェートアルドラーゼ（配列番号1275）を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50 μ g/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピル- β -D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、フルクトース1，6－ビスホスフェートアルドラーゼ活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例13：グリセロールキナーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるグリセロールキナーゼ（配列番号1646）を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーデ

ィングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

- 5 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5% イーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
- 10 さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

- この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、
- 15 この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例14：グルタメートデヒドロゲナーゼ)

- 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
- 20 グルタメートデヒドロゲナーゼ (配列番号1239および1637) を*Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。
- 25

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を

含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD₆₆₀ が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、
5 さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1
10 982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

（実施例15：ピルベートキナーゼ）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
15 ピルベートキナーゼ（配列番号1776）を*Escherichia coli*
i 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。
このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE
20 3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD₆₆₀ が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
25 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回

収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

（実施例16：エノラーゼ）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるエノラーゼ（配列番号681）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50 μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD660が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、

この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例17：フルクトース1, 6-ビスホスファターゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
5 フルクトース1, 6-ビスホスファターゼ（配列番号1488）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、
10 *coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
15 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

20 この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例18：ヒドロゲナーゼ)

25 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるヒドロゲナーゼ（各サブユニットは、配列番号1141、1142、1502

および1503)を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて

5 *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

- 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5% イーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
- 10 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。
- 15 この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例19：β-グリコシダーゼ)

- 20 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるβ-グリコシダーゼ (配列番号990) を*Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。
- 25 このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

- 10 この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例20：α-アミラーゼ)

- 15 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるα-アミラーゼ (配列番号268) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。この
- 20 プラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

- 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
- 25 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、

さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

- 5 この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

（実施例21：デアセチラーゼ）

- 10 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるデアセチラーゼ（配列番号1190）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。こ
15 のプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

- 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））
20 に接種し、37℃でOD₆₆₀ が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上
25 清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1

982)に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例22：シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ)

5 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ（配列番号1068）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

10 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μ g/ml) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄·7H₂O (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

20 この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

25 (実施例23：4-α-D-グルカノトランスフェラーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる

4- α -D-グルカノトランスフェラーゼ（配列番号1185）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発
5 現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50 μ g/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄·7H₂O（pH7））
10 に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルー β -D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上
15 清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

20 （実施例24：DNAポリメラーゼ）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるDNAポリメラーゼ（配列番号2、93、379、648、649、743、1386、1740、1830）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレ
25 ームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプ

ラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、上記おのこの配列について酵素活性が確認された。また、この酵素は、上記おのこの配列について90℃に至適温度を有していた。

(実施例25：ホーミングエンドヌクレアーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるホーミングエンドヌクレアーゼ (配列番号2) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イ

ーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O (pH7))
に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
5 収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1
982) に記載のエンドヌクレアーゼアッセイに準じた方法に従って測定した
10 ところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有し
ていた。

(実施例26：ヒストン)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
15 ヒストン (配列番号173、1470、1962など) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオー
プンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増
幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラス
ミドを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli*
20 BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μg/ml) を
含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イ
ーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O (pH7))
に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
25 ビルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回

収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質溶液とした。

- 5 この粗タンパク質溶液を基質として丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載のヒストンキナーゼを用いた方法に従って測定したところ、基質としての活性が確認された。また、このタンパク質は、90℃でも安定であった。

（実施例27：ヒストンA&B）

- 10 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるヒストンA&B（配列番号1470、1962）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

- 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50 μ g/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質溶液とした。
- 25

この粗タンパク質溶液を基質として丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブ

ック、朝倉書店（１９８２）に記載のヒストンキナーゼを用いた方法に従って測定したところ、基質としての活性が確認された。また、このタンパク質は、
９０℃でも安定であった。

5 （実施例２８：Recタンパク質）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
Recタンパク質（配列番号１１０６）を*Escherichia coli*
内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディ
ングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミ
ドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。
10 このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE
3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（５０μg/ml）を
含有するNZCYM培地（１％NZアミン、０．５％NaCl、０．５％イ
ーストエキス、０．１％カザミノ酸、０．２％MgSO₄・7H₂O（pH7））
15 に接種し、３７℃でOD₆₆₀ が０．４になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、０．１mM）を添加し、
さらに４時間３７℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
20 液を得た。この細胞抽出液を８０℃で１５分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗タンパク質溶液とした。

この粗タンパク質溶液を基質として*Methods in Enzymol
ogy* 262（１９９５）に記載される方法にしたがって測定したところ、
このタンパク質としての活性が確認された。また、このタンパク質は、９０℃
25 でも安定であった。

(実施例 29 : O⁶-メチルグアニン DNAメチルトランスフェラーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる O⁶-メチルグアニン DNAメチルトランスフェラーゼ (配列番号 1034) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれ PCR を用いて増幅し、プラスミド pET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μ g/ml) を含有する NZCYM 培地 (1% NZ アミン、0.5% NaCl、0.5% イーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% MgSO₄ · 7H₂O (pH 7)) に接種し、37℃ で OD₆₆₀ が 0.4 になるまで培養し、次いでイソプロピル- β -D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに 4 時間 37℃ で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を 80℃ で 15 分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を *Methods in Enzymology* 262 (1995) に記載されるアッセイに準じた方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃ に至適温度を有していた。

(実施例 30 : PCNA)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen ; 増殖性細胞核抗原) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれ PC

Rを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μ g/ml) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄ · 7H₂O (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質溶液とした。

この粗タンパク質溶液を、Methods in Enzymology 262 (1995) に記載されるアッセイに準じた方法に従って測定したところ、この粗タンパク質が標記タンパク質であることが確認された。また、このタンパク質は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例31：インドールピルベートフェレドキシンオキシドレダクターゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるインドールピルベートフェレドキシンオキシドレダクターゼ (配列番号245、291、658、659、660、661、704、941、1036、1037、1295、1297、1338、1683、1685、1686、1725、1827、2012、2147) を*Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。

このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE 3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有する NZCYM 培地 (1% NZ アミン、0.5% NaCl、0.5% イーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 7)) に接種し、37℃で OD660 が 0.4 になるまで培養し、次いでイソプロピルー β -D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに 4 時間 37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を 80℃で 15 分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

15

(実施例 32 : グルタミンシンセターゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる グルタミンシンセターゼ (配列番号 627) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれ PCR を用いて増幅し、プラスミド pET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE 3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有する NZCYM 培地 (1% NZ アミン、0.5% NaCl、0.5% イーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 7))

に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
5 液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1
982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、
この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

10

(実施例33：アントラニレートホスホリボシルトランスフェラーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
アントラニレートホスホリボシルトランスフェラーゼ (配列番号394、17
67) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操
15 作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、
それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen)
n) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *Esche*
richia coli BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μg/ml) を
20 含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イ
ーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O (pH7))
に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
25 収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上

清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を基質として丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（１９８２）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、９０℃に至適温度を有していた。

5

（実施例３４：コピリン酸シンターゼ）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるコピリン酸シンターゼ（配列番号１３７、１９０４）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（５０μg/ml）を含有するNZCYM培地（１％NZアミン、０．５％NaCl、０．５％イーストエキス、０．１％カザミノ酸、０．２％MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、３７℃でOD₆₆₀が０．４になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、０．１mM）を添加し、さらに４時間３７℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を８０℃で１５分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液をMethods in Enzymology, Academic Pressに記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、９０℃に至適温度を有していた。

25

(実施例 35 : ホスホリボシルアントラニレートイソメラーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
ホスホリボシルアントラニレートイソメラーゼ (配列番号 44) を *E s c h e*
r i c h i a c o l i 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これ
5 らのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれ PCR を
用いて増幅し、プラスミド p E T 2 1 a (+) (N o v a g e n) に挿入して、
発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *E s c h e r i c h i a c*
o l i B L 2 1 (D E 3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu \text{g} / \text{ml}$) を
10 含有する N Z C Y M 培地 (1% N Z アミン、0.5% N a C l、0.5% イ
ーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{Mg S O}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (pH 7))
に接種し、37℃で O D 6 6 0 が 0.4 になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルー β -D-チオガラクトピラノシド (I P T G、0.1 mM) を添加し、
さらに 4 時間 37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
15 収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
液を得た。この細胞抽出液を 80℃で 15 分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1
982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、
20 この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例 36 : コバラミンシンターゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
コバラミンシンターゼ (配列番号 181、910、1720、1973) を *E*
25 *s c h e r i c h i a c o l i* 内で発現させるために、以下の操作を実施し
た。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれ

PCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破砕し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を Methods in Enzymology, Academic Press に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例37：インドール-3-グリセロール-ホスフェートシンターゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるインドール-3-グリセロール-ホスフェートシンターゼ (配列番号772) を*Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イ

ーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O (pH7))
に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
5 収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1
982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、
10 この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例38：トリプトファンシンターゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
トリプトファンシンターゼ (配列番号395、774、954、2032) を
15 *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施
した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞ
れPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に
挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escheric*
hia coli BL21 (DE3) 株を形質転換した。

20 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μg/ml) を
含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イ
ーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O (pH7))
に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
25 さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出

液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液をそれぞれについて丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、それぞれ
5 の酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

（実施例39：リボースホスフェートピロホスキナーゼ）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
リボースホスフェートピロホスキナーゼ（配列番号701）を*Escherichia coli*
10 *i* *c* *h* *i* *a* *c* *o* *l* *i* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

15 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、
20 さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1
25 982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例 40 : グルタメートシンターゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
グルタメートシンターゼ (配列番号 1578) を *E s c h e r i c h i a c*
5 *o l i* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリー
ディングフレームを含むフラグメントを、それぞれ PCR を用いて増幅し、プ
ラスミド pET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを
得た。このプラスミドを用いて *E s c h e r i c h i a c o l i B L 2 1*
(DE3) 株を形質転換した。

- 10 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を
含有する NZCYM 培地 (1% NZ アミン、0.5% NaCl、0.5% イ
ーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 7))
に接種し、37℃ で OD660 が 0.4 になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
15 さらに 4 時間 37℃ で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
液を得た。この細胞抽出液を 80℃ で 15 分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗酵素液とした。

- この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1
20 982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、
この酵素は、90℃ に至適温度を有していた。

(実施例 41 : オロチジン-5'-モノホスフェートデカルボキシラーゼ)

- 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
25 オロチジン-5'-モノホスフェートデカルボキシラーゼ (配列番号 1096)
を *E s c h e r i c h i a c o l i* 内で発現させるために、以下の操作を実

施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

- 5 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
- 10 さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

- この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例42：アントラニレートシンターゼ)

- 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
- 20 アントラニレートシンターゼ (配列番号43および773) を*Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli*
- 25 i BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を

含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD₆₆₀ が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、
5 さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1
10 982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

（実施例43：アスパルチルー tRNA-シンセターゼ）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
15 アスパルチルー tRNA-シンセターゼ（配列番号808）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現
20 プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50 μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD₆₆₀ が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
25 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回

収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

（実施例44：フェニルアラニル-tRNA-シンセターゼ）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるフェニルアラニル-tRNA-シンセターゼ（配列番号506および878）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5%NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD660が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、

この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例45：シャペロニン)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
5 シャペロニンA（配列番号1368）およびシャペロニンB（配列番号721）
を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escheri*
10 *chia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50μg/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
15 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質液とした。

20 この粗タンパク質溶液をFrydman, J. et al.（1994）*Nature* 370, 111.に記載される方法に従って測定したところ、このタンパク質としての活性が確認された。また、このタンパク質は、90℃でも安定であった。

25 （実施例46：TATA結合タンパク質）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる

TATA結合タンパク質（配列番号31）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。

- 5 このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

- 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（ $50\mu\text{g}/\text{ml}$ ）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ （pH7））に接種し、 37°C でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルー β -D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間 37°C で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を 80°C で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質液とした。
- 10
15

この粗タンパク質溶液をMethods in Enzymology, Academic Pressに記載される方法に従って測定したところ、このタンパク質としての活性が確認された。また、このタンパク質は、 90°C でも安定であった。

20

（実施例47：TBP相互作用タンパク質）

- 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるTBP相互作用タンパク質（配列番号1289）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを
- 25

得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質液とした。

この粗タンパク質溶液を *Methods in Enzymology*, Academic Press に記載される方法に従って測定したところ、このタンパク質としての活性が確認された。また、このタンパク質は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例48：RNアーゼHII)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるRNアーゼHII (配列番号856) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミド pET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イ

ーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O (pH7))
に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
5 収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1
982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、
10 この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例49：ヒドロゲナーゼ成熟因子)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
ヒドロゲナーゼ成熟因子 (配列番号1144、1154、1156、1516、
15 1518、1519、1869および1871) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリー
ディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プ
ラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを
得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21
20 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μg/ml) を
含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イ
ーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O (pH7))
に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
25 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回

収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質液とした。

この粗タンパク質溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、タンパク質活性が確認された。また、このタンパク質は、90℃に至適温度を有していた。

（実施例50：Lonプロテアーゼ）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるLonプロテアーゼ（配列番号929）を*Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50 μ g/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O（pH7））に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、

この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例51：チオールプロテアーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
5 チオールプロテアーゼを*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含む
フラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a(+)
(Novagen)に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用
いて*Escherichia coli* BL21(DE3)株を形質転換し
10 た。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン(50 µg/ml)を
含有するNZCYM培地(1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イ
ーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄·7H₂O(pH7))
に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
15 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド(IPTG、0.1 mM)を添加し、
さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗酵素液とした。

20 この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店(1
982)に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、
この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例52：フラグリン)

25 本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
フラグリン(配列番号11、350、351、727および728)を*Es c*

herichia coli内で発現させるために、以下の操作を実施した。
これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いてEscherichia
5 coli BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5% イーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ
10 ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質液とした。

15 この粗タンパク質溶液を Aldridge P, Hughes KT., Curr Opin Microbiol. 2002 Apr;5(2):160-5 またはそれに記載される文献に示される方法に従って測定したところ、タンパク質活性が確認された。また、このタンパク質は、90℃に至適温度を有していた。

20 (実施例53：スブチリシン様プロテアーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるスブチリシン様プロテアーゼ (配列番号979) をEscherichia coli内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、
25 プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いてEscherichia coli BL21

(DE 3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素溶液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

15 (実施例54：細胞分裂制御タンパク質A)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる細胞分裂制御タンパク質A (配列番号1369) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE 3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロ

ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質液とした。

この粗タンパク質溶液を用いて細胞分裂制御の活性を確認したところ、タンパク質活性が確認された。また、このタンパク質は、90℃に至適温度を有していた。

10 (実施例55：エンドヌクレアーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるエンドヌクレアーゼ (配列番号547、697、900、1450、1702、1716、1731、2010) を *Escherichia coli* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、それぞれPCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン (50 μg/ml) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2%MgSO₄・7H₂O (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上

清を得、これを粗酵素液とした。

この粗酵素液を丸尾文治、田宮信雄監修、酵素ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載のエンドヌクレアーゼアッセイに準じた方法に従って測定したところ、酵素活性が確認された。また、この酵素は、90℃に至適温度を有していた。

（実施例56：フェレドキシン）

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされるフェレドキシン（配列番号253）を*Escherichia coli*内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、PCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a（+）（Novagen）に挿入して、発現プラスミドを得た。このプラスミドを用いて*Escherichia coli* BL21（DE3）株を形質転換した。

出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン（50 μ g/ml）を含有するNZCYM培地（1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ （pH7））に接種し、37℃でOD660が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピル- β -D-チオガラクトピラノシド（IPTG、0.1 mM）を添加し、さらに4時間37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得た。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質液とした。

この粗タンパク質液を丸尾文治、田宮信雄監修、タンパク質ハンドブック、朝倉書店（1982）に記載の方法に従って測定したところ、タンパク質活性が確認された。また、このタンパク質は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例 57 : エキソ-β-D-グルコサミニダーゼ)

本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされる
エキソ-β-D-グルコサミニダーゼ (配列番号 1902) を *E s c h e r i*
5 *c h i a c o l i* 内で発現させるために、以下の操作を実施した。これらの
オープンリーディングフレームを含むフラグメントを、PCRを用いて増幅し、
プラスミド pET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミド
を得た。このプラスミドを用いて *E s c h e r i c h i a c o l i B L 2*
1 (DE3) 株を形質転換した。

- 10 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を
含有する NZCYM 培地 (1% NZ アミン、0.5% NaCl、0.5% イ
ーストエキス、0.1% カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 7))
に接種し、37℃で OD660 が 0.4 になるまで培養し、次いでイソプロ
ピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
15 さらに 4 時間 37℃で培養を継続した。培養終了後、細胞を遠心分離により回
収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出
液を得た。この細胞抽出液を 80℃で 15 分間加熱し、次いで遠心分離して上
清を得、これを粗タンパク質液とした。

- この粗タンパク質液を丸尾文治、田宮信雄監修、タンパク質ハンドブック、
20 朝倉書店 (1982) に記載の方法に従って測定したところ、タンパク質活性
が確認された。また、このタンパク質は、90℃に至適温度を有していた。

(実施例 58 : 他の推定機能の確認)

- 上記実施例において生物学的機能が実証された遺伝子産物以外のものについ
て、本発明によって得られたオープンリーディングフレームによりコードされ
25 る遺伝子産物を *E s c h e r i c h i a c o l i* 内で発現させるために、以

下の操作を実施する。これらのオープンリーディングフレームを含むフラグメントを、PCRを用いて増幅し、プラスミドpET21a (+) (Novagen) に挿入して、発現プラスミドを得る。このプラスミドを用いて *Escherichia coli* BL21 (DE3) 株を形質転換する。

- 5 出現したアンピシリン耐性形質転換体をアンピシリン ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) を含有するNZCYM培地 (1%NZアミン、0.5% NaCl、0.5%イーストエキス、0.1%カザミノ酸、0.2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH7)) に接種し、37℃でOD660 が0.4になるまで培養し、次いでイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG、0.1 mM) を添加し、
- 10 さらに4時間37℃で培養を継続する。培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、超音波処理により破碎し、これを再度遠心分離することにより細胞抽出液を得る。この細胞抽出液を80℃で15分間加熱し、次いで遠心分離して上清を得、これを粗タンパク質液とする。

- この粗タンパク質液を、発現させたタンパク質の表2に記載の推定機能について、丸尾文治、田宮信雄監修、タンパク質ハンドブック、朝倉書店 (1982) または *Methods in Enzymology* シリーズ、Academic Press に記載の方法に従って測定する。アッセイ後活性が確認される。また、このタンパク質は、90℃に至適温度を有することが確認される。

20

(実施例59：生体分子チップーDNAチップ)

次に、生体分子チップの作製例を示す。この実施例では、配列の異なるDNAを基板上に配列し、固定化する方法を述べる。

- 本発明の特定の配列のDNA断片の集合体を、ドット形状に基板に固定されたDNAスポットとして固定する。基板は、通常ガラスを用いるがプラスチックでもよい。形状は、DNAチップのような四角形でもよいし、円形でもよい。
- 25

DNAドットは各々異なる本発明の遺伝子をコードする任意のDNAを含み、基板とは固定化されている。DNAドットの大きさは、マイクロアレイの場合は直径100～200 μ m、DNAチップの場合は、10～30 μ mである。

次に、各々のDNAスポットの形成法を述べる。例えば、目的のDNA溶液を、ピン法、インクジェット方式等を用いてDNAの基板上に配置する。

これによって製造されたDNAチップの調製例を図7に示す。

(実施例60：生体分子チップープロテインチップ)

次に、生体分子チップの作製例を示す。この実施例では、配列の異なるプロテインを基板上に配列し、固定化する方法を述べる。

本発明の特定の配列のプロテイン断片の集合体を、ドット形状に基板に固定されたプロテインスポットとして固定する。基板は、通常ガラスを用いるがプラスチックでもよい。形状は、DNAチップのような四角形でもよいし、円形でもよい。DNAドットは各々異なる本発明の遺伝子をコードする任意のDNAを含み、基板とは固定化されている。プロテインのドットの大きさは、マイクロアレイの場合は直径100～200 μ m、プロテインチップの場合は、10～30 μ mである。

次に、各々のプロテインのスポットの形成法を述べる。例えば、目的のプロテインの溶液を、ピン法、インクジェット方式等を用いてプロテインの基板上に配置する。

これによって製造されたプロテインチップの調製例を図7に示す。外観はDNAチップに類似する。

以上のように、本発明の好ましい実施形態を用いて本発明を例示してきたが、本発明は、特許請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その

内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。

(発明の効果)

- 5 生物のゲノムの任意の場所で効率よく確実な遺伝子ターゲティングの方法およびそのためのキットを提供することができた。また、*Thermococcus kodakaraensis* KOD1のゲノム全配列情報、およびそこに含まれる遺伝子の情報もまた提供される。

10 産業上の利用可能性

- 本発明は、種々の超耐熱性の遺伝子産物を提供し、しかも、生物のゲノムの任意の場所で効率よく確実な遺伝子ターゲティングの方法およびそのためのキットを提供するという点において有用である。このような種々の超耐熱性の遺伝子産物は、ゲノム解析などの点で超耐熱性の生物の全体的な解析にも応用す
- 15 ることができる。

請求の範囲

1. 生物のゲノムにおける任意の遺伝子をターゲティング破壊するための方法であって、

A) 該生物のゲノムの全配列の情報を提供する工程；

5 B) 該配列の任意の少なくとも1つの領域を選択する工程；

C) 該選択された領域と相同な配列、およびマーカージ遺伝子を含むベクターを提供する工程；

D) 該ベクターで該生物を形質転換する工程；および

E) 該生物を相長的組換えが生じる条件下に配置する工程、

10 を包含する、方法。

2. 前記工程B)において、前記領域は少なくとも2つ選択される、請求項1に記載の方法。

15 3. 前記ベクターは、プロモーターをさらに含む、請求項1に記載の方法。

4. 前記マーカージ遺伝子の発現産物を検出する工程をさらに包含する、請求項1に記載の方法。

20 5. 前記マーカージ遺伝子は、前記選択された領域内に配置される、請求項1に記載の方法。

6. 前記マーカージ遺伝子は、前記選択された領域の外に配置される、請求項1に記載の方法。

25

7. 前記ゲノムは、*Thermococcus kodakaraensis*

KOD1のゲノムである、請求項1に記載の方法。

8. 前記ゲノムは、配列番号1または1087に示される配列を有する、請求項1に記載の方法。

5

9. 前記領域は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つの配列をコードする配列を含む、請求項1に記載の方法。

10

10. 配列番号1または1087に示される配列を有する、核酸分子。

11. 配列番号1または1087に示される配列の少なくとも8の連続する核酸配列を含む、核酸分子。

15

12. 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列をコードする配列を含む、核酸分子。

20

13. 表2の読み枠がf-1、f-2またはf-3の場合、表2に示される配列番号1の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも70%相同である配列を有するか、あるいは表2の読み枠がr-1、r-2またはr-3の場合、配列番号1
25 087の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも70%相同である

配列を有する、核酸分子。

14. 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～
1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選
5 択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相
同である配列を含む、ポリペプチド。

15. 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～
1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選
10 択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相
同である配列の少なくとも3つの連続するアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

16. 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～
1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選
15 択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相
同である配列の少なくとも8つの連続するアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

17. 配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～
1468、1470～1837、および1839～2157からなる群より選
20 択される少なくとも1つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも70%相
同である配列の少なくとも3つの連続するアミノ酸配列を含み、かつ、生物学
的活性を有する、ポリペプチド。

18. 前記生物学的活性は、表2における日本語または英語による説明に示さ
25 れる機能を含む、請求項17に記載のポリペプチド。

19. 耐熱性タンパク質をスクリーニングする方法であって、
- A) 耐熱性生物のゲノムの全配列を提供する工程；
 - B) 該配列の任意の少なくとも1つの領域を選択する工程；
 - C) 該選択された領域と相同な配列、および該耐熱性タンパク質の候補をコードする遺伝子を含むベクターを提供する工程；
 - D) 該ベクターで該生物を形質転換する工程；
 - E) 該耐熱性生物を相同的組換えが生じる条件下に配置する工程；
 - F) 相同的組換えが起きた該耐熱性生物を選択する工程；および
 - G) 該耐熱性タンパク質を同定するアッセイを行う工程、
- 10 を包含する、方法。
20. 耐熱性タンパク質をスクリーニングするキットであって、
- A) 耐熱性生物；ならびに
 - B) 該耐熱性生物において選択されたある領域と相同な配列、および該耐熱性タンパク質の候補をコードする遺伝子を含むベクター、
- 15 を備える、キット。
21. C) 前記耐熱性タンパク質を同定するためのアッセイシステム、
- をさらに備える、請求項20に記載のキット。
- 20
22. 前記耐熱性生物は、超好熱始原菌である、請求項20に記載のキット。
23. 前記耐熱性生物は、*Thermococcus kodakaraensis* KOD1である、請求項20に記載のキット。
- 25
24. 生体分子チップであって、

配列番号 1 または 1 0 8 7 に示される配列の少なくとも 8 の連続または不連続のヌクレオチド配列を有する核酸分子またはその改変体が少なくとも 1 つ支持体に配置された、
生体分子チップ。

5

2 5. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号 1 または 1 0 8 7 に示される配列を網羅するように配置される、請求項 2 4 に記載の生体分子チップ。

2 6. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号 1 または 1 0 8 7 に示される配列の任意のオープンリーディングフレームを含む、請求項 2 4 に記載の生体分子チップ。

2 7. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号 1 または 1 0 8 7 に示される配列の実質的にすべてのオープンリーディングフレームを含む、請求項 2 4 に記載の生体分子チップ。

2 8. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～ 7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つの配列をコードする配列を含む、請求項 2 4 に記載の生体分子チップ。

2 9. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～ 7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる配列をコードする配列を実質的にすべて含む、請求項 2 4 に記載の生体分子チップ。

30. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも8の連続したヌクレオチド長を有する配列を含む、請求項24に記載の生体分子チップ。

31. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも15の連続したヌクレオチド長を有する配列を含む、請求項24に記載の生体分子チップ。

32. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも30の連続したヌクレオチド長を有する配列を含む、請求項24に記載の生体分子チップ。

33. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1839～2157からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列、またはその1もしくは数個の置換、付加および／もしくは欠失を含む配列を含む、請求項24に記載の生体分子チップ。

34. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号2～341、343～722、724～1086、1088～1468、1470～1837、および1

8 3 9 ~ 2 1 5 7 からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少なくとも 8 の連続したヌクレオチド長を有する配列、またはその 1 もしくは数個の置換、付加および／もしくは欠失を含む配列を含む、請求項 2 4 に記載の生体分子チップ。

5

3 5. 前記核酸分子またはその改変体は、表 2 の読み枠が $f-1$ 、 $f-2$ または $f-3$ の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも 70 % 相同である配列を有するか、あるいは表 2 の読み枠が $r-1$ 、 $r-2$ または $r-3$ の場合、配列番号 1 0 8 7 の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも 70 % 相同である配列を有する、請求項 2 4 に記載の生体分子チップ。

10

15 3 6. 前記支持体は、アドレス可能である、請求項 2 4 に記載の生体分子チップ。

3 7. 配列番号 2 ~ 3 4 1、3 4 3 ~ 7 2 2、7 2 4 ~ 1 0 8 6、1 0 8 8 ~ 1 4 6 8、1 4 7 0 ~ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ~ 2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70 % 相同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体が少なくとも 1 つ支持体に配置された、生体分子チップ。

20

3 8. 前記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2 ~ 3 4 1、3 4 3 ~ 7 2 2、7 2 4 ~ 1 0 8 6、1 0 8 8 ~ 1 4 6 8、1 4 7 0 ~ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ~ 2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配

25

列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列の少なくとも 3 つの連続するアミノ酸配列を含む、請求項 37 に記載の生体分子チップ。

5 39. 前記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2 ～ 341、343 ～ 722、724 ～ 1086、1088 ～ 1468、1470 ～ 1837、および 1839 ～ 2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列の少なくとも 8 つの連続するアミノ酸配列を含む、請求項 37 に記載の生体分子チップ。

10 40. 前記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2 ～ 341、343 ～ 722、724 ～ 1086、1088 ～ 1468、1470 ～ 1837、および 1839 ～ 2157 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 70% 相同である配列の少なくとも 3 つの連続するまたは不連続のアミノ酸配列を含み、かつ、生物学的活性を有する、請求
15 項 37 に記載の生体分子チップ。

41. 前記生物学的活性は、表 2 における日本語または英語による説明に示される機能を含む、請求項 40 に記載の生体分子チップ。

20 42. 前記生物学的活性は、エピトープ活性を含む、請求項 40 に記載の生体分子チップ。

43. 配列番号 1 または 1087 に示される配列の少なくとも 8 の連続または不連続のヌクレオチド配列を有する核酸分子またはその改変体の核酸配列の情
25 報が格納された、記録媒体。

4 4. 前記核酸分子またはその改変体は、配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～ 7 2
2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、および 1
8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる配列をコードする配列の実質的にすべての配列の少
なくとも 8 の連続したヌクレオチド長を有する配列、またはその 1 もしくは数
5 個の置換、付加および／もしくは欠失を含む配列を含む、請求項 4 3 に記載の
記録媒体。

4 5. 前記核酸分子またはその改変体は、表 2 の読み枠が $f - 1$ 、 $f - 2$ また
は $f - 3$ の場合、表 2 に示される配列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の
10 位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少な
くとも 7 0 % 相同である配列を有するか、あるいは表 2 の読み枠が $r - 1$ 、 r
 $- 2$ または $r - 3$ の場合、配列番号 1 0 8 7 の核酸番号（アンチセンス鎖、開
始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列またはそ
の配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列を有する、請求項 4 3 に記載の記録
15 媒体。

4 6. 配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～ 7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～
1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる群より選
択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相
20 同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体のアミノ配列の情報が格
納された、記録媒体。

4 7. 前記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～
7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、およ
25 び 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配
列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列の少なくとも 3 つの連続

するアミノ酸配列を含む、請求項 4 6 に記載の記録媒体。

4 8. 前記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～
7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、およ
5 び 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配
列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列の少なくとも 8 つの連続
するアミノ酸配列を含む、請求項 4 6 に記載の記録媒体。

4 9. 前記ポリペプチドまたはその改変体は、配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～
10 7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～ 1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、およ
び 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配
列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相同である配列の少なくとも 3 つの連続
するまたは不連続のアミノ酸配列を含み、かつ、生物学的活性を有する、請求
項 4 6 に記載の記録媒体。

15

5 0. 前記生物学的活性は、表 2 における日本語または英語による説明に示さ
れる機能を含み、該機能に関する情報が格納される、請求項 4 9 に記載の記録
媒体。

20 5 1. 配列番号 2 ～ 3 4 1、3 4 3 ～ 7 2 2、7 2 4 ～ 1 0 8 6、1 0 8 8 ～
1 4 6 8、1 4 7 0 ～ 1 8 3 7、および 1 8 3 9 ～ 2 1 5 7 からなる群より選
択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列またはその配列と少なくとも 7 0 % 相
同である配列を含む、ポリペプチドまたはその改変体に対する抗体が少なくと
も 1 つ支持体に配置された、生体分子チップ。

25

5 2. 表 2 の読み枠が $f - 1$ 、 $f - 2$ または $f - 3$ の場合、表 2 に示される配

列番号 1 の核酸番号（センス鎖、開始）の位置から核酸番号（センス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも 70 % 相同である配列、あるいは表 2 の読み枠が $r - 1$ 、 $r - 2$ または $r - 3$ の場合、配列番号 1087 の核酸番号（アンチセンス鎖、開始）の位置から核酸番号（アンチセンス鎖、終結）の位置までの配列またはその配列と少なくとも 70 % 相同である配列と、相同な配列を有する RNA i 分子。

5 3. 少なくとも 10 ヌクレオチド長の二本鎖部分を含む RNA またはその改変体である、請求項 5 2 に記載の RNA i 分子。

10

5 4. 3' 突出末端を含む、請求項 5 2 に記載の RNA i 分子。

5 5. 前記 3' 突出末端は、2 ヌクレオチド長以上の DNA である、請求項 5 4 に記載の RNA i 分子。

15

5 6. 前記 3' 突出末端は、2 ～ 4 ヌクレオチド長の DNA である、請求項 5 4 に記載の RNA i 分子。

図1

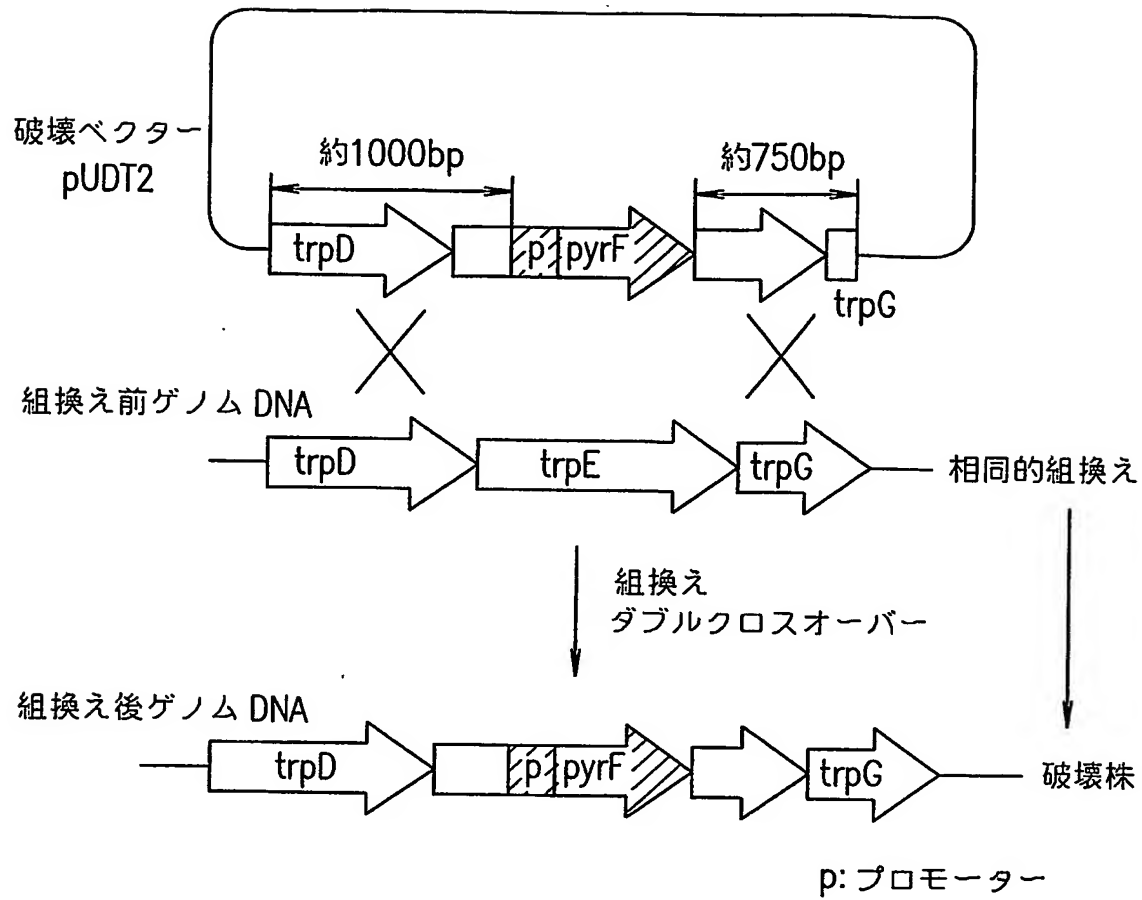


図2

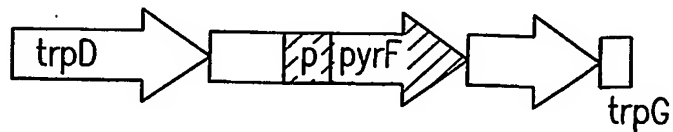
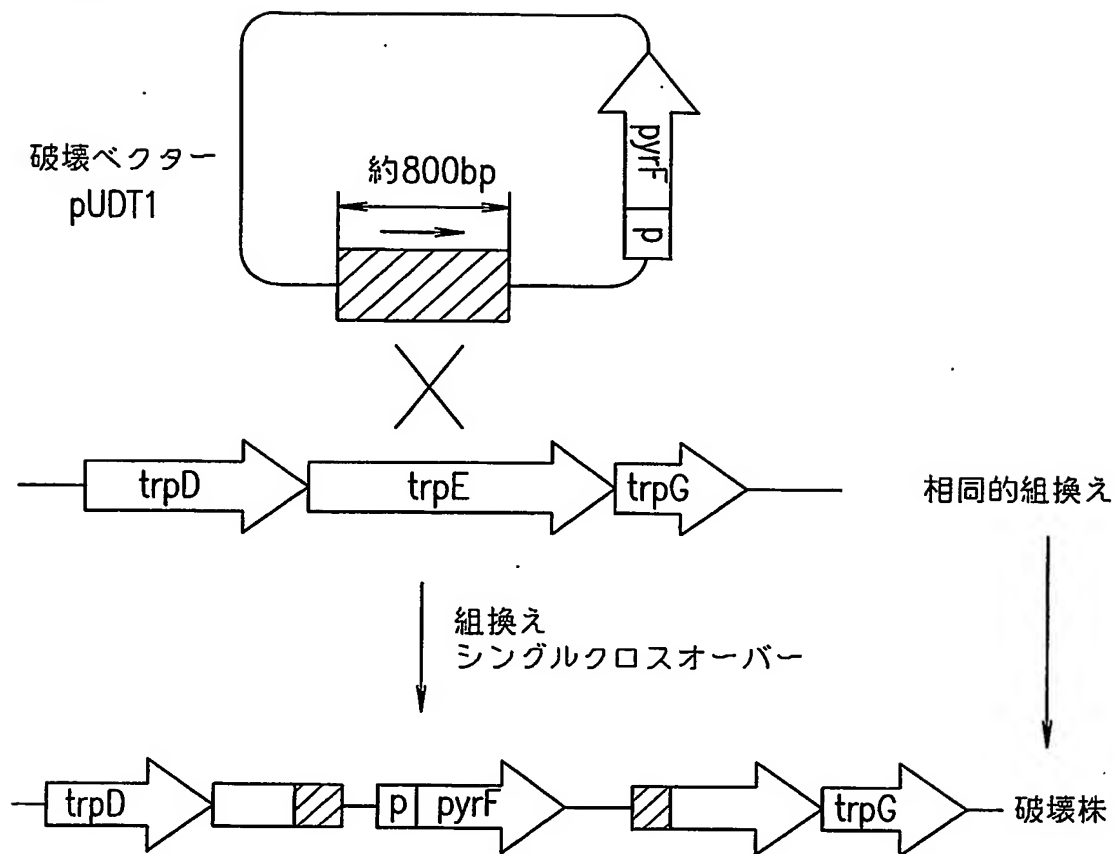
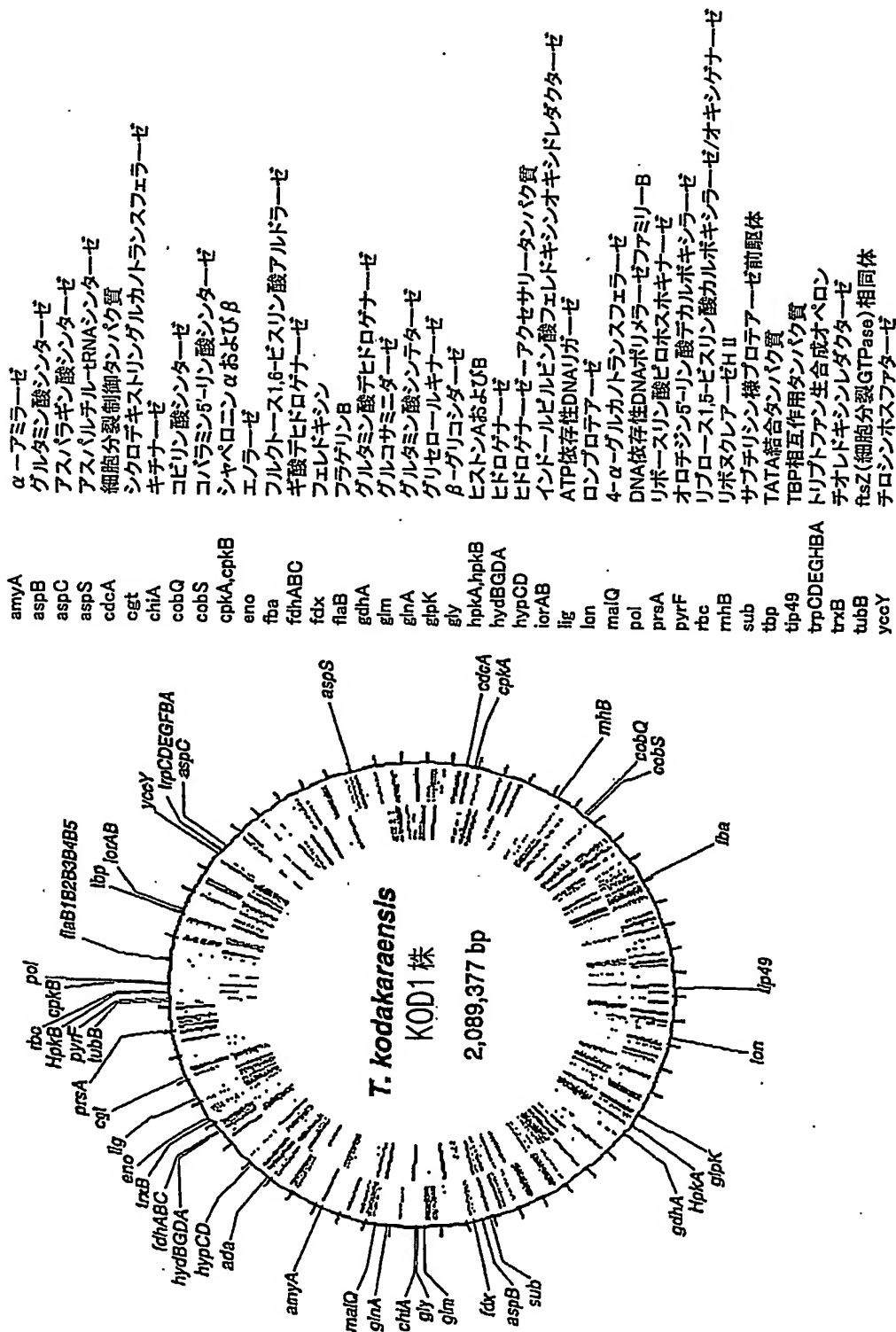


図3



Thermococcus kodakaraensis KOD1

ゲノムプロジェクト



α-アミラーゼ
グルタミン酸シナーゼ
アスパラギン酸シナーゼ
アスバチル-tRNAシナーゼ
細胞分裂制御タンパク質
シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ
キチナーゼ
コピリン酸シナーゼ
コバミン5'-リン酸シナーゼ
シヤペロニンαおよびβ
エノラーゼ
フルクトース1,6-ビスリン酸アルドラーゼ
キ酸デヒドロゲナーゼ
フェレドキシン
フラゲリンB
グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
グルコサミニダーゼ
グルタミン酸シナーゼ
グリセロールキナーゼ
β-グリコシダーゼ
ヒストンAおよびB
ヒドロゲナーゼ
ヒドロゲナーゼ-アクセサリータンパク質
インドールビルビン酸フェレドキシンオキシドレダクターゼ
ATP依存性DNAリガーゼ
ロンプロテアーゼ
4-α-グルカノトランスフェラーゼ
DNA依存性DNAポリメラーゼファミリーB
リボースリン酸ピロホスホキナーゼ
オロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼ
リプロース1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ
リボヌクレアーゼH II
サブチリンシン様プロテアーゼ前駆体
TATA結合タンパク質
TBP相互作用タンパク質
トリプトファン合成オパロン
チオレドキシンレダクターゼ
ftsZ (細胞分裂GTPase) 相同体
チロシンホスファターゼ

図5 *T. kodakaraensis* KOD1 ゲノムにおける ORF のクラスタリング

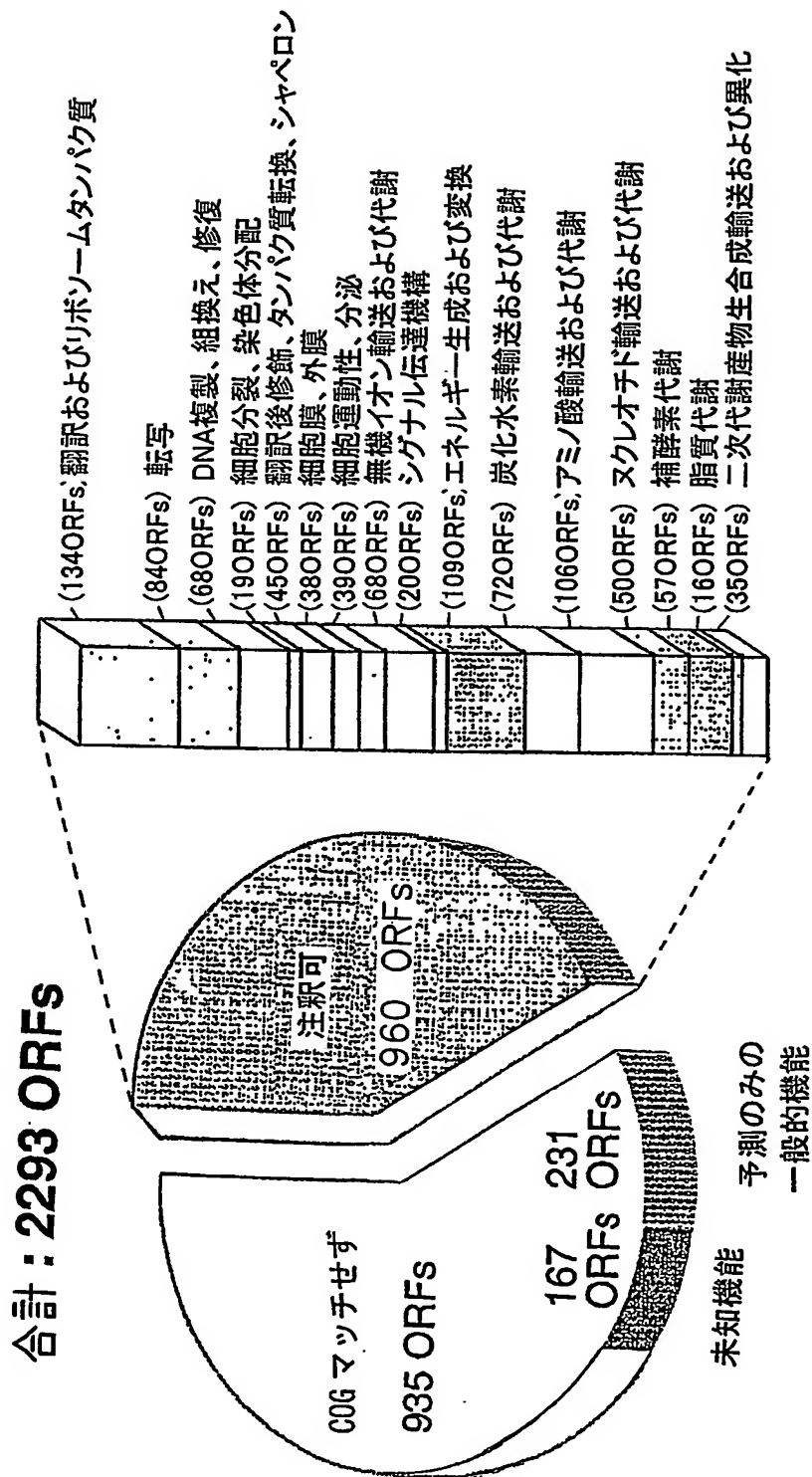


図6

T. kodakaraensis KOD1 ゲノムの ORF マップ

ORFs: 2293

平均遺伝子長 : 817.2bp

合計ゲノムの 89.7% をカバー

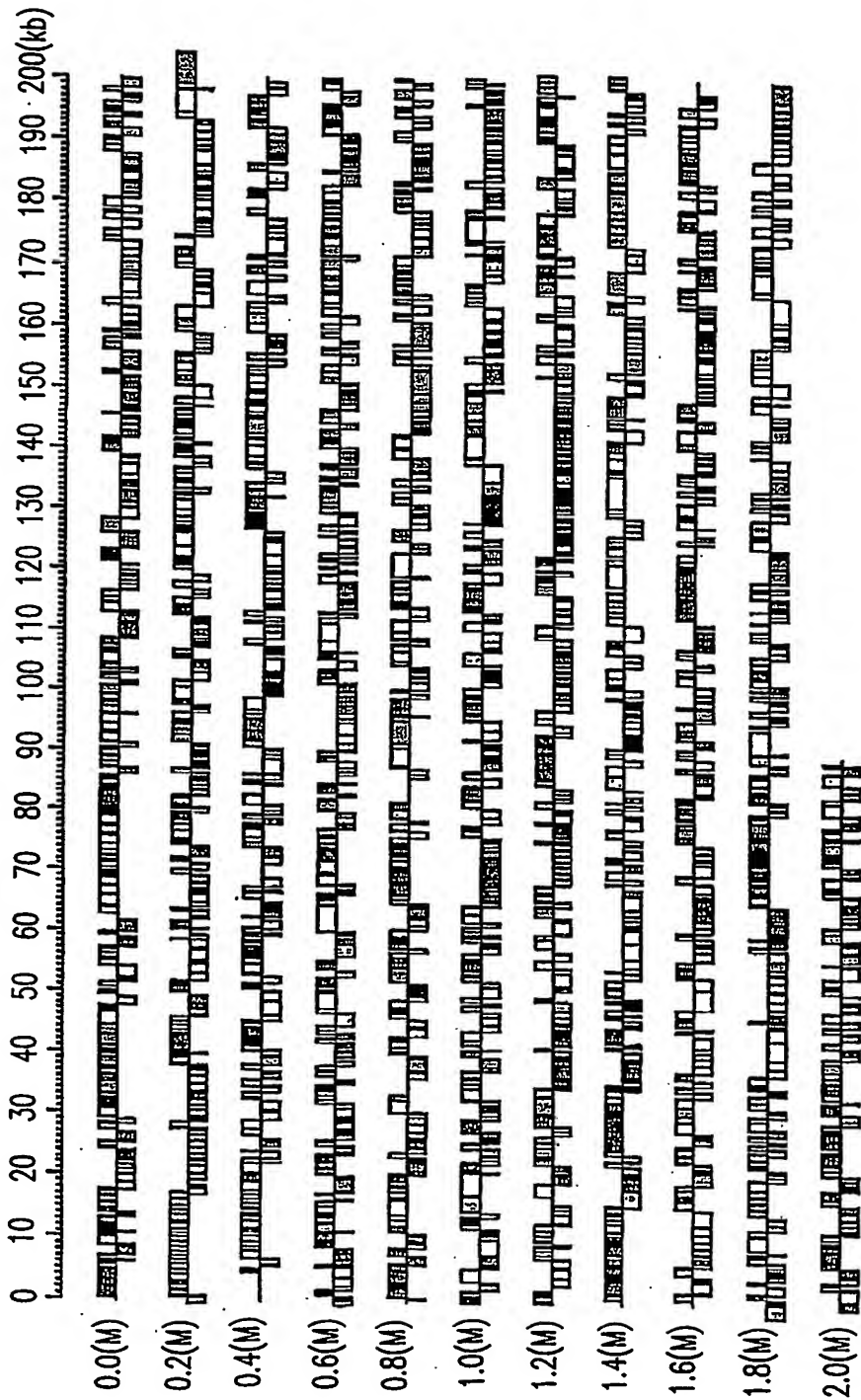
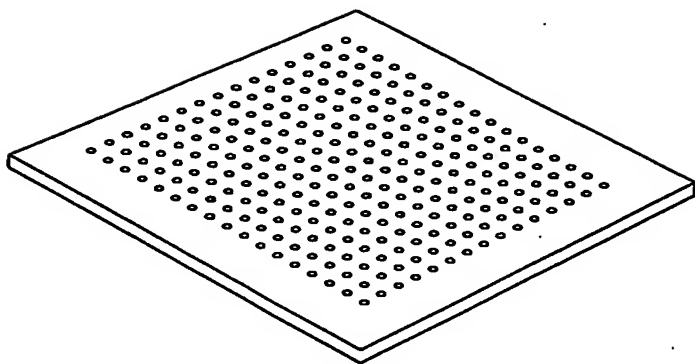


图7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/IB03/03597

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/00, C07K14/195, C12Q1/68, C12Q1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/00, C07K14/195, C12Q1/68, C12Q1/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
SwissProt/PIR/Geneseq, CAPLUS/MEDLINE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Nishioka, M. et al., "Characterization of two intein homing endonucleases encoded in the DNA polymerase gene of Pyrococcus kodakaraensis strain KOD1", Nucl.Acid.Res., (1998), Vol.26, No.19, pages 4409 to 4412; full text	11-18,24-42, 51-56
Y		1-7,9,19-23
X	Takagi, M. et al., "Characterization of DNA polymerase from Pyrococcus sp.strain KOD1 and its application to PCR", Appl.Environ.Microbiol., (1997), Vol.63, No.11, pages 4504 to 4510; full text	11-18,24-42, 51-56
Y		1-7,9,19-23
X	Nakatani, M. et al., "A DNA ligase from a hyperthermophilic archaeon with unique cofactor specificity", J.Bacteriol., (2000), Vol.182, No.22, pages 6424 to 6433; particularly, Fig. 2	11-18,24-42, 51-56
Y		1-7,9,19-23

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 18 December, 2003 (18.12.03)	Date of mailing of the international search report 13 January, 2004 (13.01.04)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/IB03/03597

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Fujiwara, S. et al., "The world of archaea: genome analysis, evolution and thermostable enzymes", Gene, (1996), Vol.179, pages 165 to 170; particularly, Fig. 2	1-7, 9, 11-42, 51-56
Y	Kawashima, T. et al., "Archaeal adaptation to higher temperatures revealed by genomic sequence of Thermoplasma volcanum", Proc.Natl.Acad.Sci.USA, (2000), Vol.97, No.26, pages 14257 to 14262; particularly, abstract; page 14261, left column, Par. No. [0005] to page 14262, right column, Par. No. [0002]	1-6, 19-22
Y	Hashimoto, Y. et al., "Disruption of Thermus thermophilus genes by homologous recombination using a thermostable kanamycin-resistant marker", FEBS lett., (2001), Vol.506, pages 231 to 234; full text	1-9, 19-23
Y	US 5807522 A (The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University), 15 September, 1998 (15.09.98), Claims & EP 804731 A & AU 2862995 A & WO 95/35505 A1 & CA 2192095 A & JP 10-503841 A	24-42
Y	Harborth J. et al., "Identification of essential genes in cultured mammalian cells using small interfering RNAs", J.Cell.Sci., (December 2001), Vol.114, Pt.24, pages 4557 to 4565, full text	52-56

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/IB03/03597

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 43-50
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
(See extra sheet.)
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(See extra sheet.)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
The parts relating to the protein represented by SEQ ID NO:2 in claims 1-7, 9, 11-42 and 51-56.

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

(Continuation of Box No. I)

The subject matter of claims 43 to 50 is a medium having an amino acid sequence recorded in amino acid symbols commonly employed. It is therefore considered that the technical feature thereof resides exclusively in the amino acid sequence recorded. Namely, the above claims have no technical feature in the presented sequence per se, the means of presentation or the method of presentation. Thus, it corresponds to mere presentation of information.

Such being the case, the above claims relate to subject matters which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2) (a) (i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

(Continuation of Box No. II)

A method of targetedly disrupting an arbitrary gene of an organism using homogeneous recombination is a technique having been well known by those skilled in the art (see, if necessary, edited by Takaaki TAMURA et al, Bunshi Seibutsugaku Illustrated, Yodosha, 2nd edition, 30 November, 1998 (30.11.98), pages 201 to 209). Also, there have been publicly known the whole sequences of genomes of several organisms required in selecting an arbitrary gene from the whole genome. (see, if necessary, KAWASHIMA, T. et al, "Archaeal adaptation to higher temperatures revealed by genomic sequence of *Thermoplasma volcanium*" Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 97 (2000), pages 14257 to 14262). Thus, the steps A) to E) in claim 1 of the present case cannot be considered as a special technical feature of each invention involved in the present case.

Similarly, it can be optionally done to select 2 or more arbitrary regions of a gene and embody the above steps concerning the positions of the thus selected regions. Also, it is a well known technique to add a promoter to the vector to be used in the above method.

Thus, the matters as set forth in claims 2 to 6 cannot be considered as special technical features common to the inventions involved in the present case too.

Furthermore, at least one protein contained in the genome of *Thermococcus kodakaraensis* and a gene encoding the same are already known in public (see, if necessary, NAKATANI, N. et al, "A DNA Ligase from a Hyperthermophilic Archaeon with Unique Cofactor Specificity" J. Bacteriol., (2000), Vol. 182, No. 22, pages 6424 to 6433). Accordingly, the point of selecting any gene from the whole genome of *Thermococcus kodakaraensis* (claims 7 to 9) cannot be considered as a special technical feature.

Moreover, claim 10 and the subsequent claims in the present case relate to a nucleic acid molecule, a polypeptide relating thereto, a screening kit, a biomolecule chip, a recording medium, and an RNAi molecule. Concerning them, at least one gene originating in *Thermococcus kodakaraensis* is already known in public as discussed above and, therefore, the origin cannot be considered as a special technical feature common to the inventions as set forth in these claims.

Such being the case, the 2153 nucleic acid molecules in total as set forth in claims of the present case should be regarded respectively as special technical features and, therefore, the present case has 2153 inventions in total.

It is recognized that this international application does not comply with the requirement of unity of invention (Law Enforcement Rule 13 (PCT Rule 13.1, 13.2 and 13.3)).

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/00, C07K14/195, C12Q1/68, C12Q1/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/00, C07K14/195, C12Q1/68, C12Q1/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/Geneseq
CAPLUS/MEDLINE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X — Y	Nishioka, M. et al., "Characterization of two intein homing endonucleases encoded in the DNA polymerase gene of <i>Pyrococcus kodakaraensis</i> strain KOD1" Nucl. Acid Res., (1998), Vol. 26, No. 19, pp. 4409-4412, 全文参照	11-18, 24-42, 51-56 1-7, 9, 19-23
X — Y	Takagi, M. et al., "Characterization of DNA polymerase from <i>Pyrococcus</i> sp. strain KOD1 and its application to PCR" Appl. Environ. Microbiol., (1997), Vol. 63, No. 11, pp. 4504-4510, 全文参照	11-18, 24-42, 51-56 1-7, 9, 19-23

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18. 12. 03

国際調査報告の発送日

P3.01.04

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
新留 豊



4 B 9 6 3 9

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X - Y	Nakatani, M. et al., "A DNA ligase from a hyperthermophilic archaeon with unique cofactor specificity" J. Bacteriol., (2000), Vol.182, No.22, pp.6424-6433, 特に Fig.2 参照	11-18, 24-42, 51-56 1-7, 9, 19-23
Y	Fujiwara, S. et al., "The world of archaea: genome analysis, evolution and thermostable enzymes" Gene, (1996), Vol.179, pp.165-170, 特に Fig.2 参照	1-7, 9, 11-42, 51-56
Y	Kawashima, T. et al., "Archaeal adaptation to higher temperatures revealed by genomic sequence of <i>Thermoplasma volcanum</i> " Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (2000), Vol.97, No.26, pp.14257-14262, 特に要約、及び第14261頁左欄第5段落—第14262頁右欄第2段落参照	1-6, 19-22
Y	Hashimoto, Y. et al., "Disruption of <i>Thermus thermophilus</i> genes by homologous recombination using a thermostable kanamycin-resistant marker" FEBS lett., (2001), Vol.506, pp.231-234, 全文参照	1-9, 19-23
Y	US 5807522 A (The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University), 1998.09.15, 請求の範囲参照 & EP 804731 A & AU 2862995 A & WO 95/35505 A1 & CA 2192095 A & JP 10-503841 A	24-42
Y	Harborth J. et al., "Identification of essential genes in cultured mammalian cells using small interfering RNAs" J. Cell. Sci. (Dec 2001), Vol.114, Pt.24, pp.4557-4565, 全文参照	52-56

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

PCT17条(2)(a)の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 43-50 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
(別紙参照)
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

(別紙参照)

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

請求の範囲 1-7, 9, 11-42, 51-56のうち配列番号2で表されるタンパク質に関連する部分

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

(第I欄の別紙)

請求の範囲43-50は、アミノ酸配列を通常のアミノ酸記号によって記録した媒体を対象としており、その技術的特徴は記録されたアミノ酸配列にのみ存在すると認められる。すなわち、上記請求の範囲は該配列の提示自体、提示手段ないし提示方法に技術的特徴を有するものとは認められず、情報の単なる提示に該当する。

したがって、上記請求の範囲はPCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(v)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。

(第II欄の別紙)

相同性組換えを用い、生物の任意の遺伝子をターゲティング破壊する方法は当業者に周知の技術であり(必要であれば、田村隆明ら編、分子生物学イラストレイテッド、第2刷、羊土社発行、1998年11月30日、p.201-209等参照)、該任意の遺伝子を全ゲノムより選択するために必要な生物ゲノムの全配列についても、何種かの生物について既に公知である(必要ならば、Kawashima, T. et al, "Archaeal adaptation to higher temperatures revealed by genomic sequence of *Thermoplasma volcanium*" Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.97 (2000), pp.14257-14262等参照)。したがって、本願請求の範囲1における工程A) - E) を本願に含まれる各発明の特別な技術的特徴とすることはできない。

同様に、遺伝子の任意の領域を2つ以上選択すること、該選択される領域の位置についても、適宜なし得ること、あるいは上記方法に用いるベクターにプロモーターを含ませることも、周知技術である。

したがって、請求の範囲2-6に記載の事項も、本願に含まれる発明に共通の特別な技術的特徴とすることはできない。

さらに、*Thermococcus kodakaraensis*のゲノムに含まれる、タンパク質及びそれをコードする遺伝子の少なくとも一つは既に公知であるから(必要ならば、Nakatani, N. et al, "A DNA Ligase from a Hyperthermophilic Archaeon with Unique Cofactor Specificity" J. Bacteriol., (2000), Vol.182, No.22, pp.6424-6433等参照)、*Thermococcus kodakaraensis*の全ゲノムからいずれかの遺伝子を選択するという点(請求の範囲7-9)も、特別な技術的特徴とすることはできない。

本願の請求の範囲10以降の請求の範囲はさらに、核酸分子及びそれらに関連したポリペプチド、スクリーニングキット、生体分子チップ、記録媒体及びRNA i分子に関するが、これらについても、*Thermococcus kodakaraensis*由来の遺伝子は、その少なくとも一つが上述のとおり既に公知であるから、該由来をもって、これらの請求の範囲に含まれる各発明に共通な特別な技術的特徴とすることはできない。

以上より、本願発明は請求の範囲に記載された合計2153個の核酸分子をそれぞれ特別な技術的特徴と見るべきであるから、合計2153個の発明を含むものである。

この国際出願は発明の単一性の要件(法施行規則第13条(PCT規則13.1、13.2及び13.3))を満たしていないと認める。